ZEITSCHRIFT

FÜR

HYGIENE

UND

INFECTIONSKRANKHEITEN.

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. R. KOCH, UND DR. C. FLÜGGE,

GEH. MEDICINALRATH UND DIRECTOR DES INSTITUTES FÜR INFECTIONS-KRANKHEITEN ZU BERLIN,

O. Ö. PROFESSOR UND DIRECTOR DES HYGIENISCHEN INSTITUTES DER UNIVERSITÄT BRESLAU.

NEUNUNDDREISSIGSTER BAND.

MIT ZAHLREICHEN ABBILDUNGEN IM TEXT UND SIEBEN TAFELN.

LEIPZIG,

VERLAG VON VEIT & COMP.

1902.

Druck von Metzger & Wittig in Leipzig.

Inhalt.

[Aus dem staatlichen serotherapeutischen Institute in Wien.]
(Vorstand: Prof. R. Paltauf.)

Differentialdiagnostische Untersuchungen über Kapselbakterien.

Von

Dr. **Paul Clairmont,**
z. Z. Assistent der I. chirurg. Klinik des Prof. Frh. v. Eiselsberg.

Die leicht nachweisbare Kapsel des Friedländer'schen Pneumoniebacillus war ein so wesentliches Merkmal desselben, dass andere Bakterien, welche die gleiche Eigenthümlichkeit erkennen liessen, im System an diesen Mikroorganismus angereiht wurden. Und dies umsomehr, als zahlreiche kapseltragende Bakterien, welche sowohl als Saprophyten wie als Krankheitserreger in den verschiedensten Localisationen gefunden wurden, auch in cultureller und biologischer Beziehung dem Pneumobacillus nahe standen, ja sogar nur unbestimmt von demselben abgegrenzt werden konnten. So entstand jene Gruppe von Bakterien, welche schon Fasching, nach ihm Nicolaier und Andere als eine „durch eine Reihe übereinstimmender Merkmale und Eigenschaften wohl charakterisirte Gruppe" von den übrigen Bakterienarten systematisch trennten, und welche Fricke mit dem Gattungsnamen „Bacillus mucosus capsulatus" bezeichnete. Später suchte Wilde die dem Typus des Friedländer'schen Bacillus pneumoniae nahe stehenden Bakterien zu einer natürlichen Gruppe zusammenzufassen, welche er in fünf Typen eintheilte, und die Kruse als die „Gruppe des Bacillus aërogenes und Rhinosclerombacillus" bezeichnete.

Was die Differenzirung innerhalb der Gruppe der Kapselbacillen anlangte, so wollten die Einen die einzelnen Arten, namentlich mit Rücksicht auf die ihnen zukommende verschiedene ätiologische Rolle, scharf von einander trennen und auf Grund geringfügiger morphologischer und biologischer Unterschiede als verschiedene Species betrachtet wissen. (Löwenberg, Fasching, Abel u. s. w.), Andere aber (zuerst Paltauf und v. Eiselsberg, Thost, dann Hajek, Fricke u. s. w., neuerdings

de Simoni) vermutheten in den einzelnen Arten (wie Bac. ozaenae, Sclerombacillus) verschiedene Varietäten einer Species (des Bact. Friedländer's). Diese Ansicht beruhte auf der Erfahrung, dass die morphologischen und biologischen Unterscheidungsmerkmale unsichere waren, andererseits aber die Annahme, dass „ein und derselbe Infectionsstoff durch die verschiedene Art seiner Ausbreitung und Ansiedelung verschiedene Krankheitsformen erzeugen könne“ (Paltauf und v. Eiselsberg), möglich war.

Immerhin wurden von beiden Seiten alle differential-diagnostisch verwerthbaren Momente wie culturelles Verhalten, Thierpathogenität, chemisch-biologische Eigenschaften der einzelnen Stämme zur Entscheidung herangezogen. Als mit Wilde's Arbeit diese Merkmale geradezu erschöpft waren, blieb nur die Hoffnung, dass es vielleicht mit Hülfe der Serodiagnostik gelingen würde, die einzelnen Arten dieser Gruppe — wie dies für die Vibrionen gelungen war — von einander zu trennen bezw. mit einander zu identificiren. Wilde hatte bereits solche Versuche begonnen, war aber zu keinem abschliessenden Resultat gelangt; in dem Folgenden soll über diesbezügliche eigene ausgedehntere Versuche berichtet werden.

Es wurden zunächst Bakterien, welche mit Sicherheit zur Gruppe der Kapselbakterien gezählt werden konnten, gesammelt und in Bezug auf morphologisches und culturelles Verhalten, biologische Eigenschaften und Thierpathogenität bestimmt. Dann wurden mit einer Anzahl dieser Stämme Kaninchen immunisirt und das Serum dieser Thiere auf Anwesenheit von Agglutininen und Antikörpern geprüft.

Die einzelnen Stämme, deren genaue Beschreibung am Schluss in Tabellenform gegeben ist, wurden fast ausschliesslich im Institute rein gezüchtet. Ein Scleromstamm, der Bacillus capsulatus mucosus Fasching (im Protokoll als B. c. m. F. bezeichnet) und der Bac. capsulatus septicus (Proteus hominis capsulatus Bordoni-Uffreduzzi, B. c. s.) wurden aus Král's Laboratorium in Prag bezogen. Dem liebenswürdigen Entgegenkommen der Herren Doc. Dr. R. Abel in Hamburg verdanke ich 2 aus Ozaenasecret gezüchtete Stämme (O. II und III), Doc. Dr. H. Albrecht in Wien einen Sclerombacillus (Scl. III), Dr. Moro, Assistenten der pädiatrischen Klinik in Graz einen Aërogenesstamm (A. I). Der B. capsulatus Pfeiffer (B. c. Pf.) und ein Pneumobacillus (F. X) stammen aus dem Wiener hygienischen Institute. Durch die Ueberlassung von Material Seitens der Herren Dr. Ebstein, Assistenten der laryngologischen Klinik und Dr. W. Knöpfelmacher war ich in Stand gesetzt, das Secret mehrerer Ozaenafälle, ein excochleïrtes Gewebsstückchen eines Scleromfalles und Säuglingsfäces bakteriologisch zu verwerthen. Es sei mir erlaubt, allen genannten Herren an dieser Stelle meinen Dank zu wiederholen.

Der besseren Uebersicht wegen wurden die reingezüchteten Stämme — wenn auch nur vorläufig — als bestimmte Arten angesprochen und auch dementsprechend in den Protokollen bezeichnet. Maassgebend waren bei dieser Einreihung ausser der Herkunft die bisher bekannt gewordenen Charakteristica der einzelnen Species, welche allerdings, wie schon ausgeführt wurde und noch gezeigt werden soll, keineswegs scharfe und allgemein anerkannte sind. Doch schien dieses Verfahren erlaubt, da in zahlreichen Fällen mit dem Fundort die in den Protokollen benützte Bezeichnung gegeben war; so wurden die aus Ozaenasecret gezüchteten Stämme als O. I, II u. s. w., die von Scleromfällen herrührenden als Scl. I, II u. s. w. bezeichnet, ohne dass damit eine Bestimmung derselben als „Bacillus ozaenae" oder „Bacillus rhinoscleromatis" und Trennung von den als F. I, II u. s. w. bezeichneten Stämmen gemeint war. Als solche wurden alle jene Kapselbakterien bezeichnet, welche keinen specifischen Fundort hatten, so weit sie nicht zur Gruppe des Bact. lactis aërogenes zu gehören schienen. Ausserdem standen mir mehrere Laboratoriumsstämme zur Verfügung, welche zum Vergleich dienen konnten.

Während es leicht war, die als „Friedländer'sche Pneumoniebacillen", „Ozaena- und Sclerombacillen" in der Litteratur beschriebenen Arten bei ihrem Vorkommen bei bestimmten pathologischen Zuständen zu verschaffen, war es schwieriger, die als „Aërogenes" bekannte Species zu erhalten. Auch hier war wieder deren häufiges Vorkommen in Säuglingsfäces und Cystitisharn ausschlaggebend für die Wahl der Protokollbezeichnung A. I, II, III u. s. w., ohne dass damit, was nochmals betont werden muss, eine Identität der einzelnen Stämme angenommen war. Gerade wegen der schwierigen Charakteristik dieser letztgenannten Gruppe war ein Paradigma für dieselbe erwünscht. Als solches sollte ein aus Král's Laboratorium am 31. VII. 1899 bezogener Aërogenesstamm dienen, der angeblich von der Escherich'schen Originalcultur herrührte. Es musste aber von diesem Vorhaben abgestanden werden, weil dieser Stamm in einer 24 stündigen Bouilloncultur langsame, aber deutliche Eigenbewegung zeigte. Diese Thatsache ist von Wichtigkeit, weil derselbe Stamm in der Litteratur als „Bact. lact. aërog. Escherich" verwendet worden zu sein scheint. So sagt K. B. Lehmann am Schlusse seines Referates über die Arbeit Scheffer's, der offenbar diesen Stamm benutzt hatte: „Ein von uns aus dem Král'schen Institute bezogenes Bact. lactis aërogenes besass ausserdem 2 bis 3 lange Geisseln."[1] Es ist wohl auch mit Rücksicht auf die Angabe Kruse's, wonach der bewegliche und coliähnliche B. chologenes (Stern) sozusagen unter den Augen des Beobachters unbeweglich und Aërogenes

[1] *Münchener med. Wochenschrift.* 1898. S. 24.

gleich wurde, die Annahme auszuschliessen, dass das ursprünglich geissellose unbewegliche B. lact. aër. Escherich nach längerer Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden geisseltragend und beweglich geworden sei.

Im Ganzen standen der Untersuchung 38 verschiedene Stämme zur Verfügung, welche zum grössten Theil während des Jahres 1899 und in den ersten Monaten 1900 isolirt worden waren. Die Laboratoriums- und die von Král bezogenen Stämme waren durch längere Zeit fortgezüchtet worden, so der B. caps. sept. seit dem Jahre 1887, der B. caps. Fasching und B. c. Pfeiffer seit dem Winter 1889/90.

Alle Stämme bis auf den letztgenannten, den Pfeiffer aus dem Peritonealexsudat eines spontan eingegangenen Meerschweinchens gezüchtet hatte, stammen vom Menschen. Nach ihrem Fundort lassen sie sich folgendermassen gruppiren. In dem Respirationstract wurden 25, im Intestinaltract 20, im Urogenitalsystem 2 Stämme gefunden; ein Stamm war aus Blut und Organen isolirt worden, 2 Stämme waren unbekannter Herkunft.

In dem Folgenden sollen die Ergebnisse der Untersuchungen in einer Reihenfolge wiedergegeben werden, welche ihrer natürlichen und methodischen Anordnung entgegengesetzt erscheint. Es soll nämlich zuerst über die Versuche, die einzelnen Stämme mit Hülfe der Serodiagnostik zu differenziren, berichtet werden. Erst dann sollen das culturelle Verhalten, die biologisch-chemischen Eigenschaften und die Thierpathogenität im Zusammenhang besprochen werden. Diese Anordnung ergiebt sich aus dem Umstande, dass das Wesentliche dieser Untersuchungen in dem ersten Theile gelegen war. Als es sich jedoch zeigte, dass auch diese Methode keine Resultate ergab, war es naheliegend, auf ein möglichst genaues Studium der letzterwähnten Eigenschaften zurückzugreifen und namentlich mit Hülfe einer einheitlichen systematischen Untersuchung differentialdiagnostisch verwerthbare Momente aufzufinden.

I. Serodiagnostik.

Fasching hatte gelegentlich der Reinzüchtung eines Kapselbacillus aus dem Nasensecret eines klinischen Influenzafalles schon festgestellt, dass Mäuse, für welche der gefundene Mikroorganismus sehr stark pathogen war, nach dem Ueberstehen einer Infection mit alten Culturen der Infection mit vollvirulenten Culturen in derselben Zeit erlagen wie Controlthiere. Ebenso erwarben Mäuse, welche mit Culturen inficirt worden waren, die durch 48 oder 72 Stunden einer Temperatur von 56° Celsius ausgesetzt waren, obwohl dieselben anscheinend von der Impfung völlig unbeeinflusst blieben, keine Immunität gegenüber vollvirulenten Culturen.

Auch Pfeiffer's Versuche, Meerschweinchen gegen den von ihm gefundenen Kapselbacillus durch vorherige subcutane Impfungen immun zu machen, blieben ohne Erfolg. Die Thiere erlagen prompt der intraperitonealen Infection.

Löwenberg suchte die Eigenart seines „Bacillus ozaenae" gegenüber dem Pneumoniebacillus auf diese Weise zu stützen. Es gelang ihm, eine Maus durch Injection erhitzter Culturen, beginnend mit 0·5 ccm, allmählich steigend, dann zu nicht erhitzten und immer frischeren Culturen übergehend, insoweit zu schützen, als sich bei derselben nach Impfung mit grossen Mengen einer frischen Cultur, welche für eine Controlmaus tödtlich waren, zwar am Rücken ein enormer Abscess entwickelte, der sich aber schliesslich nach 3 Wochen schloss, und die Maus am Schlusse, nachdem sie sehr krank gewesen war, wieder vollkommen hergestellt wurde. Das Gleiche gelang mit einem Kaninchen, welches vom 30. Mai bis 26. Juni mit mehrmaligen intraperitonealen Injectionen kleinster Mengen alter Culturen behandelt worden war. Am 26. Juni wurde es mit 1·0 ccm einer 4 tägigen frischen Cultur inficirt. Das Kaninchen blieb gesund. Am 13. December — ob das Kaninchen seit Juni weiter behandelt worden war, ist aus Löwenberg's Arbeit nicht ersichtlich — wurde bei demselben ein Aderlass gemacht und das Serum auf Schutzwirkung gegen den Ozaenabac. geprüft. Zu diesem Zwecke wurde zunächst die letale Dose einer frischen Cultur bestimmt: sowohl nach intraperitonealer wie nach intravenöser Injection der Hälfte einer Cultur gingen Kaninchen nach 24 bezw. 48 Stunden ein. Am nächsten Tag (29. XII.) wurde einem Kaninchen ein Drittel dieser virulenten Agarcultur intravenös injicirt und gleich darauf in die Randvene des anderen Ohres 2·0 ccm des Serums. Das Versuchsthier war zwar am nächsten Tag krank, erholte sich aber bald wieder. Als 14 Tage später (13. I.) das angeblich immunisirte Kaninchen eine intravenöse Injection einer Cultur erhielt, ging es am folgenden Tage ein. Ebenso erwies sich das Serum dieses Thieres bei einer abermaligen Prüfung ohne Schutzwirkung. Weiter wurde eine Maus, welche als einzige nach Vorbehandlung mit alten Friedländerculturen eine Infection mit einer grossen Menge frischer Cultur überstanden hatte, mit einer letalen Dose von Ozaenabacillen inficirt. Dieselbe starb. Die Immunität gegen den Pneumobac. bestand also nicht auch gegen den Ozaenabacillus. Löwenberg schloss daraus, dass die beiden Bakterien nicht identisch seien, wollte aber die mögliche Annahme, dass der Ozaenabacillus ein „Pneumobacille exalté" sei, durch folgenden Versuch ausschliessen: Eine Maus, welche eine Ozaenainfection überstanden hatte, wurde mit einer letalen Dose Friedländercultur geimpft; ebenso eine Controlmaus. Während diese überlebte (Exitus 2 Monate nach der Impfung), ging die

Versuchsmaus am 8. Tage nach der Impfung mit positivem Bakterienbefund im Herzen ein. —

Die Versuche Löwenberg's wurden ausführlich wiedergegeben, weil sie positive Resultate bringen, die nicht unanfechtbar erscheinen. Namentlich lässt jener Versuch, welcher mit dem Serum eines immunisirten Kaninchens an einem Thiere angestellt wurde, mit Hinblick auf das spätere Eingehen des „Immunthieres" selbst sowie die Unwirksamkeit des Serums bei einer abermaligen Prüfung einen Zweifel an der Schutzwirkung dieses Serums berechtigt erscheinen. Ebenso ist der letzt angeführte Versuch nicht einwandsfrei, er mahnt vielmehr zur Vorsicht bei Beurtheilung einzelner Befunde.

v. Dungern und Löb erwähnen, dass Immunität der Versuchsthiere durch einmalige oder auch wiederholte Erkrankung niemals hervorgerufen wurde.

Wilde wollte durch Immunisirung von Kaninchen ein Serum gewinnen, das zur Differentialdiagnose verwendet werden sollte. Er benutzte hierzu 20 ausgesuchte kräftige Kaninchen, welche mit den verschiedensten Stämmen immunisirt wurden. Zur Injection gebrauchte er ausschliesslich Emulsionen von frischen Agarculturen in Bouillon. Die Kaninchen wurden zuerst intravenös, später — bei grösserem Volumen der Flüssigkeit — subcutan und schliesslich intraperitoneal injicirt. Hierbei stellten sich bald Schwierigkeiten ein. Die unter die Haut eingebrachten Bacillen erregten dort fast immer Eiterung und häufig sehr ausgedehnte Abscesse; das Körpergewicht der Thiere ging oft sehr beträchtlich herunter. So gelang es Wilde, nur ein Thier am Leben zu erhalten. Dieses Kaninchen hatte im Laufe von $2^1/_2$ Monaten im Ganzen 38·5 ccm eines Sclerombacillus (aus Král's Laboratorium) injicirt erhalten. Vierzehn Tage nach der letzten Injection wurde aus der Femoralis Blut entnommen. Mit dem Serum wurden 3 Versuche an Meerschweinchen angestellt, in denen dasselbe auf eine Schutzwirkung gegen den homologen Stamm, einen Pneumobacillus und einen Ozaenastamm, geprüft wurde. Gegen die beiden ersteren erwies sich das Serum wirksam (die Versuchsthiere überlebten, während die Controlthiere nach 40 und 17 Stunden eingingen), gegenüber dem Ozaenabacillus zeigte sich ein günstiger Einfluss auf die Temperatur. Controlversuche mit normalem Kaninchenserum wurden nicht angestellt. Wilde begnügte sich, diesen Versuch anzuführen, ohne aus demselben irgend welche bestimmte Folgerungen für die Identität der untersuchten Culturen ziehen zu wollen.

In Baumgarten's Jahresbericht 1897 theilte Paltauf, anschliessend an sein Referat über den Sclerombacillus, Befunde mit, welche sich auf

Agglutination des Pneumo- und Sclerombacillus durch Normal- und Immunserum bezogen: Kraus beobachtete nach subcutaner Injection abgetödteter Sclerombacillen unter 3 Fällen 2 Mal Fadenbildung, die im normalen Blute nicht vorhanden gewesen war, nach 16- bis 18stündigem Verweilen im Brutkasten Haufenbildung; auf den Friedländer'schen Bacillus wirkte dieses Serum nie ein. Umgekehrt wirkte jedoch das Serum nach der subcutanen Einverleibung abgetödteter Friedländer'scher Bacillen immer auf Sclerombacillen in der Weise ein, „dass sich nach 12 bis 18 Stunden Haufen und Fäden und Haufen aus langen Ketten, auch amorphe Massen oder Haufen bildeten, während dies nur theilweise häufig beim Friedländer'schen Bacillus beobachtet wurde" (von 4 Fällen 3 Mal). Donath's Immunisirungen von Meerschweinchen ergaben ein ganz analoges Resultat. Die vorläufigen Ergebnisse dieser Versuche würden nach Paltauf dafür sprechen, dass der Sclerombacillus als eine in allen Energieen (Resistenz der Culturen, Zersetzungen und chemische Processe, Pathogenität, Entwickelung von Agglutininen) dauernd herabgesetzte Form des „Friedländer'schen Bacillus" zu betrachten sei. —

In demselben Jahre berichtete Landsteiner über die Resultate seiner Immunisirungsversuche von Meerschweinchen mit dem Bacillus pneumoniae. Es war ihm gelungen, einzelne Thiere längere Zeit am Leben zu erhalten und ihnen grosse Bakterienmengen (z. B. im Verlaufe von 4 Monaten 24 Agarculturen) einzubringen, während andere zahlreiche Thiere während der Immunisirung erlagen. Im Serum von 5 Thieren konnte Landsteiner nach der Behandlung Agglutinine nachweisen; doch waren dieselben in einer Verdünnung 1:10 nicht mehr wirksam. Uebrigens scheint auch beim Verhältniss 1:1 von Serum zu Cultur die Agglutination sehr wenig intensiv, vielleicht sogar unsicher gewesen zu sein, da nicht selten in mehreren gleichzeitig und scheinbar gleichartig angefertigten Präparaten Unterschiede im Ausmaass des Vorganges vorhanden waren und, um sicher zu gehen, zahlreiche Präparate und namentlich viele Controlproben angelegt werden mussten. Leider scheint Landsteiner die Agglutinationsfähigkeit seiner Immunsera nur auf den homologen Stamm geprüft zu haben, obwohl ihm 20 verschiedene Kapselbacillenarten zur Verfügung standen. Versuche, eine Schutzwirkung durch das Serum zu erzielen, gelangen nicht in überzeugender Weise.

Sicard's Versuche, durch Immunisirung von Meerschweinchen und Kaninchen mit Ozaenabacillen (5 Stämme) ein wirksames Serum zu erhalten, misslangen. Das Serum dieser Thiere, welche Methode der Immunisirung auch immer angewendet wurde, ob nun filtrirte Culturen oder lebende oder abgetödtete Bakterien injicirt wurden, zeigte niemals agglutinirende Fähigkeit oder schützende Wirkung. In gleicher Weise blieb

die Behandlung eines Esels durch 2 Monate mittels subcutaner Injection erfolglos. Zum Vergleich wurden 3 Friedländerstämme herangezogen. von denen zwei nicht im Stande waren, bei geimpften Thieren Agglutinine zu erzeugen, während der dritte (aus dem Pasteur'schen Institute in Paris) schon nach kurzer Zeit bei Impfung eines Kaninchens und eines Meerschweinchens eine sehr intensive Agglutination erzeugte. Es ist aus Sicard's Mittheilung nicht ersichtlich, ob dieselbe auch auf die anderen Stämme geprüft wurde.

Mit ähnlicher Methodik suchte Scheffel die Differenzirung des Bac. aërogenes und B. coli com. zu ermöglichen. Doch verlieren dessen Versuche mit Rücksicht auf unsere gegenwärtigen Kenntnisse über die Agglutination der Coli-Gruppe wesentlich an Bedeutung, da er nur mit je einem Stamm arbeitete.

Wie die besprochene Litteratur zeigt, wurde schon zu wiederholten Malen, wenn auch in wenig ausgedehntem Maassstabe, der Versuch gemacht, die Serodiagnostik zur Differenzirung innerhalb der Gruppe der Kapselbakterien und zur Abgrenzung dieser Gruppe von ähnlichen anderen Mikroorganismen zu verwerthen. In dem Serum verschiedener immunisirter Thiere wurden Agglutinine oder Antikörper gesucht. Hierbei zeigte es sich, dass es in Folge der starken Pathogenität der Kapselbakterien für die üblichen Versuchsthiere nicht leicht war, dieselben an grosse Bakterienmengen zu gewöhnen. Der Erfolg der Immunisirung war unsicher. Agglutinine wurden zwar von einem Theil der Autoren nach der Behandlung bisweilen in geringer Concentration gefunden, Antikörper konnten aber niemals mit Sicherheit nachgewiesen werden. —

In den eigenen Versuchen wurden zur Immunisirung 20 Kaninchen verwendet, welche mit den verschiedenen Stämmen durch wechselnd lange Zeit behandelt wurden. Die zunächst folgenden Immunisirungsprotocolle mögen dies zeigen:

Kaninchen 147. Immunisirung mit Stamm F. I.

23. IX. 1899. Anfangsgew. 1540 ^{grm}. 0·5 ^{ccm} einer 2 Mal 24 stdg. abget. Bouilloncultur (58° C. durch 1 Stunde) subcutan. 25. IX. 1600 ^{grm}. 27. IX. 0·25 ^{ccm} einer 2 Mal 24 stdg. virul. Bouilloncultur. 4. X. 1380 ^{grm}. 6. X. 1320 ^{grm}. 10. X. 1460 ^{grm}. 12. X. 0·5 ^{ccm} einer 2 Mal 24 stdg. vir. Bouilloncultur. 17. X. 1500 ^{grm}. 30 X. 1540 ^{grm}. $^1/_4$ Agarcultur abget. 5. XI. $^1/_2$ abget. Agarcultur. 7 XI. 1640 ^{grm}. 14. XI. 1440 ^{grm}. 1 abget. Agarcultur. 20. XI. 1720 ^{grm}. 27. XI. 2 abget. Agarculturen. 4. XII. 1880 ^{grm}. Erbsengrosses Infiltrat an der Injectionsstelle. 5. XII. 4 Agarculturen abget. 11. XII. weiches Infiltrat. 1840 ^{grm}. 17. XII. 1800 ^{grm}. 20. XII. 1900 ^{grm}. 21. XII. 5·0 ^{ccm} einer vir. Bouilloncultur. 28. XII. 1980 ^{grm}. 30. XII. 10·0 ^{ccm} einer vir. Bouilloncultur. 3. I. 1900. 1800 ^{grm}. 8. I. 1940 ^{grm}. 12. I. 20 ^{ccm}

vir. Bouilloncultur. 16. I. Aderlass. 19. I. 1700 grm. 22. I. 20·0 ccm vir. Bouilloncultur. 15. II. 1360 grm, starke Abmagerung. 5.0 ccm einer ca. 4 wöchentlichen vir. Bouilloncultur. 19. II. 1260 grm. 20. II. Das Thier wird in Agone entblutet.

Kaninchen 287. Immunisirung mit Stamm F. II.

29. VIII. 1899. Anfangsgew. 1800 grm. 0·2 ccm einer 24 stdg. abget. Bouilloncultur (1 Stunde bei 65°). 1. IX. 1820 grm. 5. IX. 0·5 ccm einer abget. 2 Mal 24 stdg. Bouilloncultur. 11. IX. 1940 grm. 14. IX. 1·0 ccm abget. Bouilloncultur. 17. IX. 2000 grm. 19. IX. 2·0 ccm abget. Bouilloncultur. 25. IX. 2000 grm. 27. IX. 0·5 ccm vir. Bouilloncultur (3 Mal 24 stdg.). 4. X. 2000 grm. 10. X. 2220 grm. 12. X. 1·0 ccm vir. Bouilloncultur. 17. X. 2100 grm. 30. X. 2000 grm. $^1/_2$ abget. Agarcultur. 5. XI. 1 abget. Agarcultur. 7. XI. 1820 grm. 14. XI. 1920 grm. 2 abget. Agarculturen. 20. XI. 2400 grm. 27. XI. 4 abget. Agarculturen. 29. XI. 2340 grm. 4. XII. 2400 grm. Infiltrat an der Injectionsstelle. 11. XII. 2380 grm. 17. XII. 2280 grm. 20. XII. 2440 grm. 21. XII. 1 vir. Agarcultur. 28. XII. 2480 grm. 30. XII. 2 vir. Agarculturen. 3. I. 1900. 2220 grm. 8. I. 2320 grm. Infiltrat von der Brust auf das linke Vorderbein ziehend. 15. I. Aderlass. 16. I. Exitus.

Kaninchen 282. Immunisirung mit Stamm F. III.

29. VIII. 1899. Anfangsgew. 1800 grm. 0·2 ccm abget. Bouilloncultur. 1. IX. 1800 grm. 5. IX. 0·5 ccm abget. Bouilloncultur. 11. IX. 1840 grm. 14. IX. 1·0 ccm abget. Bouilloncultur. 17. IX. 1880 grm. 19. IX. 1760 grm. 2·0 ccm abget. Bouilloncultur. 25. IX. 1780 grm. 27. IX. 0·5 ccm vir. Bouilloncultur. 4. X. 1700 grm. 10. X. 1920 grm. 12. X. 1·0 ccm vir. Bouilloncultur. 17. X. 1820 grm. Infiltrat. 30. X. 1800 grm. $^1/_2$ abget. Agarcultur. 5. XI. 1 abget. Agarcultur. 7. XI. 1820 grm. 14. XI. 1920 grm. 2 abget. Agarculturen. 20. XI. 1940 grm. 27. XI. 4 abget. Agarculturen. 4. XII. 2140 grm. 5. XII. 5·0 ccm vir. Bouilloncultur. 11. XII. 2160 grm; Aderlass. 19. XII. 5·0 ccm vir. Bouilloncultur und 1 vir. Agarcultur. 20. XII. 1940 grm. 28. XII. 2020 grm. 8. I. 1900. 2220 grm. 12. I. 5·0 ccm und 2 vir. Agarculturen. 19. I. 2060 grm. 22. I. 15·0 ccm vir. Bouilloncultur. 28. I. Aderlass. 15. II. 1820 grm, Abmagerung; 7·0 ccm einer ca. 4 wöchentl. vir. Bouilloncultur. 19. II. 1820 grm. 25. II. 1580 grm; Aderlass. 19. III. 1360 grm; 2·0 ccm einer ca. 8 wöchentl. u. 2.0 ccm einer ca. 4 wöchentl. Bouilloncultur u. 1 vir. Agarcultur. 26. III. 1500 grm; 4·0 ccm einer 7 täg. vir. Bouilloncultur. 29. III. 1300 grm. 1. IV. Exitus. Blutentnahme post mortem mittels Pipette aus dem Herzen.

Kaninchen 157. Immunisirung mit Stamm F. IV.

12. X. 1899. Anfangsgew. 2500 grm; 0·1 ccm vir. Bouilloncultur. 30. X. 2300 grm; $^1/_1$ abget. Agarcultur. 5. XI. $^1/_2$ abget. Agarcultur. 14. XI. 2600 grm; 1 abget. Agarcultur. 20. XI. 2700 grm. 27. XI. 2 abget. Agarculturen. 29. XI. 2600 grm. 4. XII. 2760 grm. 5. XII. 4 abget. Agarculturen. 11. XII. 2160 grm; diffuses leichtes Infiltrat. 17. XII. 2660 grm. 20. XII. 2800 grm. 21. XII. 5·0 ccm vir. Bouilloncultur. 28. XII. 2840 grm. 30. XII. 5·0 ccm vir. Bouilloncultur u. 1 vir. Agarcultur. 8. I. 1900. 2800 grm. 12. I.

3 vir. Agarculturen. 16. I. Aderlass. 19. I. 2600 grm. 22. I. 20·0 ccm vir. Bouilloncultur. 15. II. 2380 grm; 7·0 ccm einer ca. 4 wöchentl. vir. Bouilloncultur. 19. II. 2240 grm. 26. II. 2090 grm; Aderlass. 28. II. Exitus.

Kaninchen 92. Immunisirung mit Stamm F. V.

29. VIII. 1899. Anfangsgew. 1240 grm; 0·2 ccm abget. Bouilloncultur. 1. IX. 1280 grm. 5. IX. 0·5 ccm abget. Bouilloncultur. 13. IX. 1320 grm. 14. IX. 1·0 ccm abget. Bouilloncultur. 19. IX. 1380 grm; 2·0 ccm abget. Bouilloncultur. 25. IX. 1400 grm. 27. IX. 0·5 ccm vir. Bouilloncultur. 4. X. 1320 grm.; Infiltrat. 10. X. 1560 grm; das Infiltrat ist kleiner geworden. 12. X. 1.0 ccm vir. Bouilloncultur. 17. X. 1460 grm. 30. X. 1400 grm; 1/2 abget. Agarcultur. 5. XI. 1 abget. Agarcultur. 7. XI. 1520 grm; grosses Infiltrat auf der Brust. 14. XI. 1540 grm Infiltrat unverändert. 20. XI. 1540 grm. 27. XI. 2 abget. Agarculturen. 4. XII. 1520 grm; ausgebreitetes derbes Infiltrat. 20. XII. 1600 grm. 21. XII. 5·0 ccm vir. Bouilloncultur. 28. XII. 1540 grm. 3. I. 1900. 1480 grm. 8. I. 1560 grm. 12. I. 1 vir. Agarcultur. 19. I. 1520 grm. 22. I. 10.0 ccm vir. Bouilloncultur. 28. I. Aderlass. 15. II. 1260 grm; starke Abmagerung. 15. II. 7·0 ccm einer ca. 4 wöchentl. vir. Bouilloncultur. 19. II. Exitus.

Kaninchen 171. Immunisirung mit Stamm B. c. m. F.

29. VIII. 1899. Anfangsgew. 1460 grm; 0·2 ccm abget. Bouilloncultur. 1. IX. 1700 grm. 5. IX. 0·5 ccm abget. Bouilloncultur. 13. IX. 1800 grm. 14. IX. 1·0 ccm abget. Bouilloncultur. 17. IX. 1720 grm. 19. IX. 1820 grm; 2·0 ccm abget. Bouilloncultur. 25. IX. 1920 grm. 27. IX. 0·5 ccm vir. Bouilloncultur. 4. X. 1600 grm. 6. X. 1540 grm. 10. X. 1820 grm. 12. X. 1.0 ccm vir. Bouilloncultur. 17. X. 1760 grm. 30. X. 1740 grm 1/2 abget. Agarcultur. 5. XI. Exitus.

Kaninchen 97. Immunisirung mit Stamm O. I.

29. VIII. 1899. Anfangsgew. 1540 grm; 0·2 ccm abget. Bouilloncultur. 1. IX. 1700 grm. 5. IX. 0·5 ccm abget. Bouilloncultur. 14. IX. 1·0 ccm abget. Bouilloncultur. 19. IX. 1760 grm; 2·0 ccm abget. Bouilloncultur. 25. IX. 1780 grm. 27. IX. 0·5 ccm vir. Bouilloncultur. 4. X. 1620 grm. 6. X. 1540 grm. 10. X. 1740 grm. 12. X. 1·0 ccm vir. Bouilloncultur. 17. X. 1760 grm; Infiltrat. 30. X. 1780 grm; 1/2 abget. Agarcultur. 5. XI. 1 abget. Agarcultur. 7. XI. 1940 grm; sehr grosses Infiltrat über die ganze Brust ausgebreitet. 14. XI. 1 abget. Agarcultur. 20. XI. 1900 grm. 29. XI. 2000 grm; das Infiltrat fast vollkommen geschwunden. 4. XII. 2060. grm. 5. XII. 2 abget. Agarculturen. 11. XII. Die linke Axilla von einem derben Infiltrat eingenommen. 17. XII. 2000 grm; das Infiltrat kleiner. 20. XII. 2060 grm. 21. XII. 3 abget. Agarculturen. 28. XII. 1980 grm. 3. I. 1900. 1800 grm. Aderlass. 8. I. 1920 grm. 12. I. 1/2 vir. Agarcultur. 19. I. 1840 grm. 22. I. 5·0 ccm vir. Bouilloncultur 15. II. 1540 grm; starke Abmagerung; 7·0 ccm einer ca. 4 wöchentl. Bouilloncultur. 19. II. Exitus.

Kaninchen 232. Immunisirung mit Stamm O. II.

29. VIII. 1899. Anfangsgew. 1460 grm. 0·2 ccm abget. Bouilloncultur. 1. IX. 1620 grm. 5. IX. 0·5 ccm abget. Bouilloncultur. 13. IX. 1660 grm. 14. IX. 1·0 ccm abget. Bouilloncultur. 19. IX. 1680 grm. 2·0 ccm abget. Bouilloncultur. 25. IX. 1660 grm. 27. IX. 0·5 ccm vir. Bouilloncultur. 6. X. 1460 grm. 10. X. 1580 grm. 12. X. 1·0 ccm vir. Bouilloncultur. 17. X. 1640 grm. Infiltrat. 30. X. 1680 grm. $^1/_2$ abget. Agarcultur. 7. XI. ein ungeheures Infiltrat, welches die ganze Brust einnimmt, sich auf beide Vorderbeine erstreckt und dieselben in derben tumorähnlichen Massen verbackt. In der Folgezeit magerte das Thier continuirlich ab. 29. XI. 1300 grm. An den Vorderbeinen wurde die Haut nekrotisch. Es war nicht mehr möglich, das Thier zu injiciren. Dasselbe starb am 22. I. 1900, 1100 grm schwer.

Kaninchen 226. Immunisirung mit Stamm O. III.

29. VIII. 1899. Anfangsgew. 1300 grm. 0·2 ccm abget. Bouilloncultur. 1. IX. 1360 grm. 5. IX. 0·5 ccm abget. Bouilloncultur. 13. IX. 1440 grm. 14. IX. 1·0 ccm abget. Bouilloncultur. 17. IX. 1460 grm. 19. IX. 1540 grm. 2·0 ccm abget. Bouilloncultur. 25. IX. 1480 grm. 0·5 ccm vir. Bouilloncultur. 6. X. 1320 grm. 10. X. 1400 grm. 12. X. 1·0 ccm vir. Bouilloncultur. 30. X. 1400 grm. $^1/_2$ abget. Agarcultur. 5. XI. 1 abget. Agarcultur. 14. XI. 1640 grm. 2 abget. Agarculturen. 20. XI. 1500 grm. 4. XII. 1760 grm. 5. XII. 4 abget. Agarculturen. 11. XII. 1700 grm. Ueber der Brust ein derbes ausgebreitetes Infiltrat. 17. XII. 1700 grm. Nekrose der Haut über dem Infiltrat. 20. XII. 1840 grm. 21. XII. 5·0 ccm vir. Bouilloncultur. 28. XII. 1900 grm. 30. XII. 5·0 ccm vir. Bouilloncultur. 3. I. 1900. 1620 grm. 19. I. 1700 grm. 22. I. Exitus.

Kaninchen 21. Immunisirung mit Stamm O. IV.

29. VIII. 1899. Anfangsgew. 1900 grm. 0·2 ccm abget. Bouilloncultur. 1. IX. 2040 grm. 5. IX. 0·5 ccm, 14. IX. 1·0 ccm, 19. IX. 2·0 ccm einer abget. Bouilloncultur. 27. IX. 0·5 ccm vir. Bouilloncultur. 6. X. 1860 grm. 10. X. 2120 grm. 12. X. 1·0 ccm vir. Bouilloncultur. 17. X. 2060 grm. Infiltrat. 30. X. 2100 grm. $^1/_2$ abget. Agarcultur. 5. XI. 1 abget. Agarcultur. 7. XI. 2200 grm. Grosses Infiltrat unter der Brusthaut. 14. XI. 2200 grm. 1 abget. Agarcultur. 20. XI. 2120 grm. 4. XII. 2400 grm. 5. XII. 2 abget. Agarculturen. 19. XII. 4 abget. Agarculturen. 20. XII. 2200 grm. 28. XII. 2500 grm. 3. I. 1900. 2380 grm. 8. I. 2540 grm. 12. I. 5·0 ccm vir. Bouilloncultur. 15. I. Aderlass. 19. I. 2500 grm. 22. I. 10·0 ccm vir. Bouilloncultur. 15. II. 2620 grm. 7·0 ccm einer ca. 4 wöchentl. Bouilloncultur. 26. II. 2760 grm. 2. III. Aderlass. 19. III. 2520 grm. 2·0 ccm einer ca. 8 wöchentl. und 2·0 ccm einer ca. 4 wöchentl. Bouilloncultur und 1 vir. Agarcultur. 26. III. 2740 grm. 40·0 ccm einer 7 tägigen vir. Bouilloncultur. 29. III. 2440 grm. 3. IV. Aderlass. 5. IV. 60·0 ccm einer 10 tägigen vir. Bouilloncultur. 8. IV. Exitus.

Kaninchen 168. Immunisirung mit Stamm Scl. I.

29. VIII. 1899. Anfangsgew. 1580 grm. 0·2 ccm abget. Bouilloncultur. 1. IX. 1640 grm. 5. IX. 0·5 ccm. 14. IX. 1·0 ccm. 19. IX. 2·0 ccm abget.

Bouilloncultur. 27. IX. 0·5 ccm vir. Bouilloncultur. 12. X. 1·0 ccm vir. Bouilloncultur. 30. X. 1820 grm. 1/2 abget. Agarcultur. 5. XI. 1 abget. Agarcultur. 14. XI. 2140 grm; 2 abget. Agarculturen. 27. XI. 4 abget. Agarculturen. 4. XII. 2320 grm. 5. XII. 5·0 ccm vir. Bouilloncultur. 19. XII. 1 vir. Agarcultur und 5·0 ccm vir. Bouilloncultur. 26. XII. 2 vir. Agarculturen. 28. XII. 2420 grm. 30. XII. 4 vir. Agarculturen. 3. I. 1900. Aderlass. 12. I. 4 vir. Agarculturen. 19. I. 2360 grm. 22. I. 20·0 ccm vir. Bouilloncultur. 15. II. 2440 grm; 7·0 ccm einer ca. 4 wöchentl. Bouilloncultur. 26. II. 2500 grm. 2. III. Aderlass. 19. III. 2300 grm. Kleines Infiltrat. 4·0 ccm einer ca. 8 wöchentl. und 4·0 ccm einer ca. 4 wöchentl. Bouilloncultur. 5. IV. 40·0 ccm 10 tägige vir. Bouilloncultur und 2 vir. Agarculturen. 8. IV. Exitus.

Kaninchen 212. Immunisirung mit Stamm Scl. III.

29. VIII. 1899. Anfangsgew. 1300 grm. Die Immunisirung wurde bis 5. XI. in ganz derselben Weise durchgeführt wie bei Kaninchen 168. 20. XI. 1760 grm. 27. XI. 3 abget. Agarculturen. 4. XII. 2060 grm. 5. XII. 4 abget. Agarculturen. 17. XII. 1860 grm. 26. XII. 5·0 ccm vir. Bouilloncultur. 28. XII. 2020 grm. 30. XII. 1 vir. Agarcultur und 5·0 ccm vir. Bouilloncultur. 8. I. 1900. 2060 grm. 12. I. 2 vir. Agarculturen. 19. I. 1940 grm. 22. I. 15·0 ccm vir. Bouilloncultur. 28. I. Aderlass. 15. II. 1920 grm. 22. II. 7·0 ccm einer ca. 4 wöchentl. Bouilloncultur. 19. III. 1840 grm. 3·5 ccm einer ca. 8 wöchentl. und 3·5 ccm einer ca. 4 wöchentl. Bouilloncultur. 26. III. Exitus.

Kaninchen 166. Immunisirung mit Stamm A. II.

29. VIII. 1899. Anfangsgew. 1440 grm. 0·2 ccm abget. Bouilloncultur. 5. IX. 0·5 ccm, 14. IX. 1·0 ccm, 19. IX. 2·0 ccm abget. Bouilloncultur. 27. IX. 0·5 ccm, 12. X. 1·0 ccm vir. Bouilloncultur. 30. X. 1680 grm. 1/2 abget. Agarcultur. 5. XI. 1 abget. Agarcultur. 14. XI. 2 abget. Agarculturen. 27. XI. 4 abget. Agarculturen. 5. XII. 5·0 ccm vir. Bouilloncultur. 11. XII. 2060 grm. Aderlass.

Kaninchen 278. Immunisirung mit Stamm A. III.

14. IX. 1899. Anfangsgew. 1600 grm. 0·2 ccm abget. Bouilloncultur. 19. IX. 2·0 ccm abget. Bouilloncultur. 27. IX. 0·5 ccm, 12. X. 1·0 ccm vir. Bouilloncultur. 17. X. 1920 grm. Infiltrat. 30. X. 1/2 abget. Agarcultur. 5. XI. 1 abget. Agarcultur. 14. XI. 2140 grm. Infiltrat. 2 abget. Agarculturen. 20. XI. 2200 grm. 27. XI. 4 abget. Agarculturen. 4. XII. 2260 grm. 17. XII. 2320 grm. 19. XII. 5·0 ccm vir. Bouilloncultur. 20. XII. 2300 grm. 30. XII. 5·0 ccm vir. Bouilloncultur und 1 vir. Agarcultur. 8. I. 1900. 2500 grm. 12. I. 5·0 ccm vir. Bouilloncultur und 2 vir. Agarculturen. 19. I. 2360 grm. 22. I. 20·0 ccm vir. Bouilloncultur. 15. II. 2240 grm. 7·0 ccm einer ca. 4 wöchentl. Bouilloncultur. 28. II. Aderlass.

Kaninchen 169. Immunisirung mit Stamm A. IV.

29. VIII. 1899. Anfangsgew. 1940 grm. Die Immunisirung wurde bis 27. XI. analog wie bei Kaninchen 166 durchgeführt. 4. XII. 2980 grm. Ueber der Brust hat sich ein grosses Infiltrat entwickelt, welches in den

nächsten Tagen zur Nekrose der Haut führt. 17. XII. 3020 grm. 19. XII. 5·0 ccm vir. Bouilloncultur. 28. XII. 3040 grm. 30. XII. 1 vir. Agarcultur. 3. I. 1900. 2880 grm. 8. I. 3060 grm. 12. I. 2 vir. Agarculturen. 19. I. 3020 grm. 22. I. 15·0 ccm vir. Bouilloncultur. 15. II. 2800 grm. 7·0 ccm einer 4wöchentl. Bouilloncultur. 28. II. Aderlass.

Kaninchen 64. Immunisirung mit Stamm A. V.

29. VIII. 1899. Anfangsgew. 1700 grm. Immunisirung bis 27. XI. wie bei Kaninchen 166. 4. XII. 2980 grm; grosses Infiltrat an der Brust. 17. XII. 2800 grm. 20. XII. 2980 grm. 21. XII. 5·0 ccm vir. Bouilloncultur. 3. I. 1900. 2740 grm. 8. I. 2940 grm. 12. I. 5·0 ccm vir. Bouilloncultur und 1 vir. Agarcultur. 19. I 2780 grm. 22. I. 15·0 ccm vir. Bouilloncultur. 15. II. 2940 grm. 7·0 ccm einer 4wöchentlichen vir. Bouilloncultur. 26. II. 2780 grm. 28. II. Aderlass.

Kaninchen 158. Immunisirung mit Stamm A. VII.

19. III. 1900. Anfangsgew. 1200 grm. $^1/_4$ abget. Agarcultur. 22. III. 1020 grm. $^1/_2$ abget. Agarcultur. 26. III. 1220 grm. 1 abget. Agarcultur. 27. III. 1140 grm. 2 abget. Agarculturen. 3. IV. Aderlass.

Kaninchen 165. Immunisirung mit Stamm A. VIII.

22. II. 1900. Anfangsgew. 2500 grm. $^1/_4$ abget. Agarcultur. 26. II. 2320 grm. 2. III. 2240 grm. 19. III. $^1/_2$ abget. Agarcultur. 22. III. 2010 grm. 1 abget. Agarcultur. 26. III. 2120 grm. Infiltrat um beide vordere Extremitäten. 27. III. 2000 grm. 2 abget. Agarculturen. 29. III. Exitus. Blutentnahme post mortem aus dem Herzen.

Kaninchen 149. Immunisirung mit Stamm A. IX.

17. II. 1900. Anfangsgew. 1820 grm. $^1/_2$ abget. Agarcultur. 19. II. 1800 grm. 26. II. 1600 grm. 2. III. 1440 grm. 19. III. 1540 grm. 1 abget. Agarcultur. 22. III. 1440 grm. 1 abget. Agarcultur. 26. III. 1640 grm. 1 abget. Agarcultur. 27. III. 1600 grm. 2 abget. Agarculturen. 3. IV. Aderlass.

Kaninchen 144. Immunisirung mit Stamm A. XIII.

19. III. 1900. Anfangsgew. 1940 grm. 22. III. $^1/_2$ abget. Agarcultur. 26. III. 2020 grm. 27. III. 1940 grm. 1 abget. Agarcultur. 3. IV. Aderlass.

Wie aus den Protokollen ersichtlich ist, wurde die Immunisirung mittels subcutaner Injection (unter die Brust und Bauchhaut) in wechselnder Weise durchgeführt. Zumeist — in 16 Fällen — wurde mit der Injection kleinster Mengen (0·2 ccm) abgetödteter Bouillonculturen begonnen. Die Thiere zeigten danach ebenso wie nach Injection grösserer Mengen keine Reaction. Es wurde hierauf mit virulenten Bouillonculturen fortgesetzt. Als die Thiere schon nach Injection $^1/_2$ und 1 ccm vielfach mit Gewichtsverlust und Infiltration reagirten, wurde wieder auf die In-

jection abgetödteter Culturen und zwar ausschliesslich Agarculturaufschwemmungen zurückgegriffen. Auf die Einverleibung allmählich steigender steriler Bakterienemulsionen trat nur selten Kranksein und Abmagerung der Thiere auf; sehr oft aber entwickelten sich enorme Infiltrate und multiple Abscessbildungen, welche die weitere Injection zum mindesten erschwerten. Dies war namentlich bei Kaninchen 232 der Fall, bei welchem sich schon nach Injection einer halben Agarcultur, die in 2·5 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt und durch $1^1/_2$ Stunden bei 58° gehalten worden war, über der Brust ein derbes Infiltrat bildete, das sich über beide Achselhöhlen auf die vorderen Extremitäten erstreckte, dieselben an einander zog, verbackte und ihre Benutzung unmöglich machte. Später wurden an diesen Parthieen die Haut und das unterliegende Gewebe nekrotisch, so dass an den Vorderbeinen in weiter Ausdehnung die Knochen blosslagen. Wenn die Thiere die Injection mehrerer abgetödteter Agarculturen vertrugen, wurde die Immunisirung in der Weise fortgesetzt, dass ein Theil mit nicht abgetödteten Bouillonculturen, ein anderer mit ebensolchen Aufschwemmungen von Agarröhrchen, ein dritter Theil mit Mischungen beider Culturen behandelt wurde. Die Dauer der Immunisirung dieser Thiere schwankte zwischen 140 und 218 Tagen.

Vier Thiere, bei welchen die Immunisirung in kurzer Zeit durchgeführt werden sollte, erhielten nur abgetödtete Agarculturaufschwemmungen.

Von den 20 vorbehandelten Thieren gingen 3 ein, ohne dass ihr Serum geprüft wurde. Ein anderes starb, doch wurde aus dem Herzen desselben post mortem mittels Pipette steril Blut entnommen. Den übrigen 16 Kaninchen wurde durch Aderlass aus den Venae jugul. ext. Blut entnommen. Die geringste Gesammtmenge injicirter Culturflüssigkeit, nach welcher ein Aderlass gemacht wurde, betrug 5·2 ccm Bouilloncultur und $7^1/_2$ Agarculturen (Kaninchen 97, 282), die grösste 67·5 ccm Bouilloncultur und $9^1/_2$ Agarculturen. Der Aderlass wurde bei 2 Thieren 3 Mal, bei 3 Thieren 2 Mal, bei den übrigen je 1 Mal gemacht. Das gewonnene Serum wurde einerseits auf Anwesenheit von Agglutininen, andererseits auf das Vorhandensein von Antikörpern geprüft.

A. Agglutination.

Um die Agglutinationsfähigkeit zu bestimmen, wurde die Methode der hohlen Objectträger angewendet. Am Deckglas wurde 1 Oese des zu untersuchenden Serums mit 1 Oese der 11 bis 24 stündigen Bouilloncultur gemengt (1:1), hierauf der Tropfen in Vaselin eingeschlossen, bei Bruttemperatur gehalten und nach 2 bis 24 Stunden beobachtet. In jenen Fällen, in denen eine Agglutination auch in Verdünnungen des Serums

auftrat, wurden dieselben mit der Pipette ausgeführt, wobei 1·0 ccm gleich 20 Tropfen gerechnet wurde.

Die Resultate waren folgende:

Serum 147 (Stamm F. I).[1]

1. Untersuchung am 24. I. 1900. Aderlass am 16. I. 14stünd. Culturen 1:1.
   Nach 4 Stunden: F. I—V: wie Controlpräparat.
   B. c. m. F.: Agglutination und körniger Zerfall.
   O. II, III, V: wie Contrpr.
   O. IV: beginnende Fadenbildung.
   Scl. I: ganz vereinzelte Fäden, sonst diffus isolirt.
   Scl. II: am Rande des Tropfens einzelne wenige Fäden, isolirt.
   Scl. III: wie Contrpr.
   A. I, II, IV, V: vollkommene Agglutination.
   A. III: grosse dichte Haufen, dazwischen diffus isolirte.
   Nach 24 Stunden: F. I—V: unverändert.
   B. c. m. F.: diffus isolirt; daneben einzelne Häufchen, von denen Fadenbildung ausgeht.
   O. I, II, IV: wie Contrpr.
   Scl. I, II, III: ebenso.

2. Untersuchung am 27. II. Aderlass am 20. II. 24stünd. Culturen 1:1; sowohl nach 4 wie nach 24 Stunden zeigen Stamm F. I, III, IV, Scl. I, II keine Veränderung.

Serum 287 (Stamm F. II).

Untersuchung am 16. I. 1900. Aderlass am 15. I. 12stünd. Culturen 1:1.
   Nach 6 Stunden: F. I, III, IV, V: wie Contrpr.
   F. II: beginnende Fadenbildung.
   B. c. m. F.: zwischen Stäbchen lange Fäden.
   O. I, IV: wie Contrpr.
   O. II: Häufchenbildung neben isolirten Stäbchen.
   O. III: Fäden.
   Scl. I, II, III: wie Contrpr.
   A. I—IV: desgleichen.
   A. V: Agglutination.
   Nach 24 Stunden: F. I, III, IV, V, O. I, II, IV, Scl. I, II, III: wie Contrpr.
   B. c. m. F.: theilweise Fadenbildung.
   O. III: Fadenbildung.

Serum 282 (Stamm F. III).

1. Untersuchung am 12. XII. 1899. Aderlass am 12. XII. 24stünd. Culturen 1:1.
   Nach 2 Stunden: F. I—V: wie Contrpr.

[1] Der bei jedem Serum in Klammer angegebene Stamm ist jener, mit welchem das Kaninchen immunisirt worden war.

B. c. m. F., O. II: isolirte; daneben einzelne körnig aussehende Häufchen.
Scl. I, II: wie Contrpr.
Scl. III: isolirt; kleine Häufchen aus wenigen Stäbchen bestehend.
A. I—V: wie Contrpr.
Nach 24 Stunden: F. I—V, B. c. m. F., O. I—IV, Scl. I, II: wie Contrpr.
Scl. III: diffus isolirt, dazwischen einzelne Häufchen.

2. Untersuchung am 29. I. 1900. Aderlass am 28. I. 12stünd. Culturen 1:1.
Nach 2 u. 24 Stunden: F. I—V, B. c. m. F., O. I—IV, Scl. I—III: wie Contrpr.
A. I: neben diffusen isolirte Haufenbildung und körniger Zerfall der Häufchen.
A. II—IV: wie Contrpr.
A. V: vollkommene Agglutination.

3. Untersuchung am 27. II. Aderlass am 25. II. 24stünd. Culturen 1 : 1.
Nach 4 u. 24 Stunden: F. I, III, IV, Scl. I, II: wie Contrpr.

4. Untersuchung am 16. IV. Blutentnahme p. m. am 1. IV. 12stünd. Culturen 1:1.
Nach 10 Stunden: F. I—III, V, O. II, IV, Scl. I—IV, B. c. Pf.: wie Contrpr.
F. IV: diffus und dicht isolirt, dazwischen einzelne Fäden.
B. c. m. F.: einzelne sehr dichte Häufchen, das ganze Gesichtsfeld durchzogen von langen Fäden.
O. I: einzelne Fäden neben diffus isolirten.
O. III: das Centrum des Gesichtsfeldes von einem dichten Netzwerk von Fäden eingenommen; an der Peripherie des Tropfens begrenzte und nicht unter einander zusammenhängende Convolute von Fäden; dazwischen wenige isolirte.

Serum 157 (Stamm F. IV).

1. Untersuchung am 24. I. 1900. Aderlass am 16. I. 14stünd. Culturen 1:1.
Nach 4 Stunden: F. I, II, IV, V: wie Contrpr.
B. c. m. F.: neben wenigen isolirten spärliche körnige Haufen, beginnende Fadenbildung.
O. I—IV, Scl. I, II: wie Contrpr.
Scl. III: theilweise beginnende Fadenentwickelung.
A. I: Fadenbildung.
A. II—IV: wie Contrpr.
A. V: Agglutination und Fadenbildung.
Nach 24 Stunden: F. I, II, IV, V, B. c. m. F., O. I—IV, Scl. I—III: wie Contrpr.

2. Untersuchung am 27. II. Aderlass am 26. II. 24 stünd. Culturen 1:1.
nach 4 und 24 Stunden zeigen F. I, III, IV, Scl. I, II keine Veränderung.

Serum 92 (Stamm F. V).

Untersuchung am 29. I. 1900. Aderlass am 28. I. 12 stünd. Culturen 1:1.
nach 24 Stunden: F. I—V, O. II—IV, Scl. I—III, A. I—IV: wie Contrpr.
A. V: Haufen körniger Massen.

Serum 97 (Stamm O. II).

Untersuchung am 9. I. 1900. Aderlass am 3. I. 12 stünd. Culturen 1:1.
nach 2 Stunden: Fadenbildung.
„ 6 „ F. I—V, O. I—IV, Scl. I—III, A. II—IV: wie Contrpr.
B. c. m. F.: diffuse Fadenbildung.
A. I: in diffus isolirten einige Häufchen.
A. V: Agglutination.
nach 24 Stunden: derselbe Befund.

Serum 21 (Stamm O. V).

1. Untersuchung am 16. I. 1900. Aderlass am 15. I. 12 stünd. Culturen 1:1.
nach 6 Stunden: F. I, III—V, O. I, III, IV, A. I—IV, Scl. II: wie Contrpr.
F. II: Häufchen körniger Massen.
B. c. m. F.: zwischen kleinen Häufchen isolirte.
O. II: geringe Neigung zur Haufenbildung.
A. V: Agglutination.
Scl. I: Häufchen körniger Massen und Stäbchen; daneben wenig isolirte.
nach 24 Stunden: F. I, III—V, O. I, IV, Scl. I, II: wie Contrpr.
F. II: lange Fäden.
B. c. m. F.: Agglutination, dazw. isolirte.
O. II: in der Peripherie des Tropfens dichte Haufen, sonst diffus isol. Stäbchen.
O. III: Fadenbildung.
Scl. III: agglutinirte körnige Massen.

Serum 168 (Stamm Scl. I).

Untersuchung am 9. I. 1900. Aderlass am 3. I. 12 stünd. Culturen 1:1.
nach 2 Stunden: B. c. m. F: Auflösung in Kügelchen.
„ 6 „ F. I—V: wie Contrpr.
B. c. m. F: dichte Convolute von Fäden, zwischen denselben keine Stäbchen, sondern Häufchen bestehend aus Kügelchen, ebensolche Häufchen an der Peripherie der Fadenconvolute.

O. I—IV: wie Contrpr.
A. I—IV: dasselbe.
A. V: Agglutination.
Scl. I, III: wie Contrpr.
Scl. II: beginnende Fadenbildung.
B. c. s.: negativ, zur Fadenbildung neigend.
nach 24 Stunden: keine Veränderung gegenüber dem Befund nach 6 Stunden.
B. c. m. F.: diffuse Fadenbildung.

Serum 212 (Stamm Scl. III).

Untersuchung am 29. I. 1900. Aderlass am 28. I. 12 stünd. Culturen nach 2, 6 und 24 Stunden: F. I, III—V, B. c. m. F., O. I—IV, Scl. I—III, A. I—IV: wie Contrpr.
A. V: Agglutination.
B. c. s.: kleine Häufchen.

Serum 166 (Stamm A. II).

Untersuchung am 26. XII. Aderlass am 11. XII. 24 stünd. Culturen.
nach 2 Stunden: F. I—V, B. c. m. F., O. I—IV, Scl. I—III: wie Contrpr.
A. I: 1:1 Agglutination.
1:50 Agglutination; zwischen grossen, dichten Haufen und Gruppen isol. in Molecularbewegung.
1:200 wie 1:50, die Häufchen aber kleiner, weniger dicht.
1:400 Agglutination nahe ihrem Grenzwerth; sehr zahlreiche isol. zwischen den Häufchen.
A. II: 1:1, 1:50, 1:200, 1:400 vollkommene Agglutination.
A. III: 1:1 Agglutination.
1:50 wie 1:1, doch zahlreiche isol. in Molecularbew. zwischen den Häufchen.
1:200 wenige isol. an der Peripherie des Tropfens, sehr zahlreiche kleine Häufchen, im Centrum confluirende Häufchen, dazwischen sehr dicht isolirte.
1:400 wie 1:200.
A. IV: 1:1, 1:50, 1:200, 1:400 vollkommene Agglutination.
A. V: 1:1 Agglutination.
1:50 Agglutination, daneben einzelne isolirte.
1:200 Häufchen, dazwischen isol. Bakterien zu zweit und mehreren ohne Molecularbewegung.
1:400 wie 1:200 die isolirten zahlreicher.
A. VI: 1:1, 1:50, 1:200 wie Contrpr.
A. VII: 1:1, 1:50, 1:200 diffus isolirte in lebhafter Molecularbewegung, daneben mehr minder zahlreiche kleine sehr dichte Häufchen.

A. VIII: 1:1, 1:50, 1:200 wie Contrpr.
A. IX: 1:1, 1:50. 1:200 dasselbe.

Serum 278 (Stamm A. III).

Untersuchung am 8. III. 1900. Aderlass am 28. II. 14 stünd. Culturen.
nach $3^1/_2$ Stunden: F. I—V, B. c. m. F., O. I—IV, Scl. I—III: wie Contrpr.

A. I: 1:1 Agglutination, daneben sehr zahlr. isolirt.
1:100 sehr dicht isolirt, daneben kleine, nicht zahlr. Häufchen.
1:300 wie Contrpr.
A. II: 1:1, 1:100, 1:300 Agglutination.
A. III: 1:1 Häufchen, daneben isolirte.
1:100 zwischen zahlr. Häufchen sehr dicht isol.
1:300 wie 1:100, die Häufchen klein und zahlreich, dazwischen aber sehr viele isolirte.
A. IV: 1:1, 1:100, 1:300 Agglutination.
A. V: 1:1 Agglutination.
1:100, 1:300 wie Contrpr.
A. VI: 1:1, 1:100, 1:300 desgl.
A. VII: 1:1, 1:100, 1:300 „
A. VIII—XII: 1:1, 1:100 wie Contrpr.
B. c. Pf.: 1:1, 1:100 ebenso.

Serum 169 (Stamm A. IV).

Untersuchung am 7. III. 1900. Aderlass am 28. II. 20 stünd. Culturen.
nach 3 Stunden: F. I—V, B. c. m. F., O. I—IV, Scl. I—IV: wie Contrpr.

A. I: 1:1 Haufen- und beg. Fadenbildung; daneben isol., die Häufchen sind locker, namentlich im Centrum des Tropfens wenig scharf begrenzt, confluirend.
1:100 Häufchen zwischen sehr zahlr. isol.
1:300 diffus isol., an der Peripherie des Tropfens Häufchen.
A. II: 1:1, 1:100, 1:300 Agglutination.
A. III. 1:1 sehr dicht isol., dazwischen lockere, wenig abstechende Häufchen.
1:100 wie 1:1 an der Peripherie die Häufchen am zahlreichsten.
A. IV: 1:1, 1:100, 1:300 Agglutination.
A. V: 1:1 Agglutination.
1:100, 1:300 wie Contrpr.
A. VI, VIII—XII: 1:1, 1:100 wie Contrpr.
B. c. Pf.: 1:1, 1:100 ebenso.

Serum 64 (Stamm A. V).

Untersuchung am 10. III. 1900. Aderlass am 28. II. 11 stünd. Culturen.
nach 3 Stunden: F. I—V, B. c. m. F., O. I—IV, Scl. I—III: wie Contrpr.

A. I: 1 : 1 Agglutination, beg. Fadenbildung.
1 : 100 Agglutination.
1 : 300 diffus isol., daneben lockere Häufchen und Züge.
A. II: 1 : 1, 1 : 100, 1 : 300 Agglutination.
A. III: 1 : 1 Häufchen, daneben zahlr. isol.
1 : 100 die isol. sehr dicht, sonst wie 1 : 1.
1 : 300 diffus isolirte in lebhafter Molecularbewegung, darin wohlbegrenzte grössere und kleinere Häufchen.
A. IV: 1 : 1, 1 : 100, 1 : 300 Agglutination.
A. V: 1 : 1, 1 : 100 Agglutination.
1 : 300 zahlr. isol. vereinzelte lockere Gruppen.
A. VI: 1 : 1 Agglutination.
1 : 100 diffus isolirte zwischen dens. einzelne Häufchen.
A. VII—X: 1 : 1, 1 : 100 wie Contrpr.
A. XI: 1 : 1 diffus isol., dazwischen Haufen.
1 : 100 einzelne Häufchen, sonst isol.
A. XII: 1 : 1, 1 : 100 wie Contrpr.
B. c. Pf.: 1 : 1, 1 : 100 „ „

Serum 158 (Stamm A. VII).

Untersuchung: Anfang April 1900, Aderlass: 3. IV. 24 stünd. Culturen. nach $2^1/_2$ Stunden: A. VII: 1 : 1, 1 : 50, 1 : 200, 1 : 300 wie Contrpr.
A. I—IV: 1 : 100 dasselbe.

Serum 149 (Stamm A. IX).

Untersuchung: Anfang April 1900, Aderlass 3. IV. 24 stünd. Culturen. nach $2^1/_2$ Stunden: A. IX: 1 : 1, 1 : 50, 1 : 200, 1 : 300 wie Contrpr.
A. I—IV: 1 : 100 dasselbe.

Serum 144 (Stamm A. XII).

Untersuchung: Anfang April 1900, Aderlass 3. IV. 24 stünd. Culturen. nach $2^1/_2$ Stunden: A. XII: 1 : 1, 1 : 50, 1 : 200, 1 : 300 wie Contrpr.
A. I—IV: 1 : 100 dasselbe.

Um eine bessere Uebersicht der Resultate, die oft durch mehrmalige Untersuchungen gewonnen waren, zu ermöglichen, sind dieselben in den folgenden 2 Tabellen zusammengestellt; und zwar betrifft die erste derselben die Agglutination der Stämme F. I bis V, B. c. m. F. O. I bis IV, Scl. I bis III durch ein Immunserum eines dieser Stämme, bei einem Mischungsverhältniss 1 : 1; in der 2. Tabelle sind die Agglutinationswerthe für die Stämme A. I bis XII zusammengestellt, bei Mischung mit Immunserum dieser Stämme. Die Untersuchungen über die Beeinflussung der Stämme durch ein Immunserum der anderen Gruppe, welche in allen Fällen ein negatives Resultat ergeben hatten, wurden in die Tabellen nicht aufgenommen.

Tabelle I.

Ueber die Agglutination der Stämme F. I bis V, B. c. m. F., O. I bis IV, Scl. I bis III durch verschiedene Immunsera (1:1).

Immun-serum	Immun-stamm	F. I	F. II	F. III	F. IV	F. V	B. c. m. F.	O. I	O. II	O. III	O. IV	Scl. I	Scl. II	Scl. III
		Befund nach 2 bis 6 Stunden												
147	F. I	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0 beginn. Fadenbldg.	0 einzelne Fäden	0 einzelne Fäden	0
287	F. II	0	beginnende Fadenbldg.	0	0	0	zwisch. Stäbchen lange Fäden	0	Häufchen neben isol.	Fäden	0	0	0	0
282	F. III	0	0	0	einz. Fäden	0	einz. Häufchen, lange Fäden	0 einz. Fäden	0	Fäden	0	0	0	0
157	F. IV	0	0		0	0	körnige Haufen, beg. Fadenbildg.	0	0	0	0	0	0	theilw. beg. Fadenbldg.
97	O. I	0	0	0	0	0	Fadenbildung	0	0	0	0	0	0	0
21	O. IV	0	Häufchen körniger Massen	0	0	0	0 kleine Häufchen	0	Neigung zur Haufenbildung	0	0	Häufchen körniger Massen isol.	0	
168	Scl. I	0	0	0	0	0	Fäden, Häufchen aus Kügelchen	0	0	0	0	0	beginnende Fadenbldg.	0
212	Scl. III	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Befund nach 24 Stunden												
147	F. I	0	0	0	0	0	0 einzelne Häufchen mit Fadenbildung	0	0	0	0	0	0	0
287	F. II	0	0	0	0	0	theilw. Fadenbildung	0	0	Fadenbildg.	0	0	0	0
157	F. IV	0	0		0	0	0	0	0	0		0	0	0
92	F. V	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0
97	O. I	0	0	0	0	0	Fadenbildung	0	0	0	0	0	0	0
21	O. IV	0	lange Fäden	0	0	0	+	0	0 periphere dichte Haufen	Fadenbildg.	0	0	0	agglutinirt körnige Massen
168	Scl. I	0	0	0	0	0	diffuse Fadenbildung	0	0	0	0	0	Fäden	0
212	Scl. III	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle II.

Ueber die Agglutinationswerthe der Stämme A. I bis XII unter Einfluss verschiedener Immunsera.

Immun-serum	Immun-stamm	Befund nach 2 bis 3½ Stunden											
		A. I	A. II	A. III	A. IV	A. V	A. VI	A. VII	A. VIII	A. IX	A. X	A. XI	A. XII
166	A. II	400>	>400	200>400	>400	400>	0	0	0	0	—	—	—
278	A. III	100>300	>300	100>300	>300	1>100	0	0	0	0	0	0	0
169	A. IV	100>300	>300	?	>300	1>100	0	0	0	0	0	0	0
64	A. V	100>300	>300	100>	>300	100>300	1>100	0	0	0	0	0	0
158	A. VII	0	0	0	0	—	—	0	—	—	—	—	—
149	A. IX	0	0	0	0	0	—	—	—	0	—	—	—
144	A. XII	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	0

Bei dem Versuch mit Hülfe des Phänomens der Agglutination innerhalb der Kapselbacillengruppe eine Differentialdiagnose zu ermöglichen, waren folgende Fragen zu beantworten:

Wie verhält sich normales Kaninchenserum gegenüber den zur Immunisirung verwendeten Stämmen?

Wirkt das Serum immunisirter Kaninchen agglutinirend auf den homologen Stamm?

Wie verhalten sich diese Agglutinine gegenüber heterologen Stämmen?

Wie verhalten sich dieselben gegen eine andere Species?

Noch bevor die Immunisirung der Kaninchen begonnen worden war, wurde das Serum von 4 Thieren auf sämmtliche Stämme, welche zur Immunisirung benutzt wurden, geprüft. Diese Untersuchungen ergaben in nahezu allen Fällen ein negatives Resultat. Nur die als A. II und III bezeichneten Stämme zeigten unter Einwirkung von normalem Serum (1:1) die Neigung Häufchen zu bilden. Es kam jedoch nie zu vollkommener Agglutination. Der einzige Stamm, der dieselbe zeigte, war der Bacillus capsulatus septicus. Dieser zeichnete sich schon in der Bouilloncultur durch die Neigung aus, längere Stäbchen und Fäden zu bilden. Bei Zusatz von normalem Serum bildeten sich Häufchen und ausgesprochene Fadenbildung. Dieser Befund, das culturelle Verhalten des Bacillus capsularis septicus, sowie die damit ganz übereinstimmende Angabe Kruse's, dass eine Cultur des Bordoni'schen Bacteriums, die im Bonner hygienischen Institute gezüchtet wurde, „eine entschiedene Neigung zur Bildung längerer Stäbchen und Fäden zeigte, sich sogar kaum von der

eines B. coli unterschied", waren der Grund, warum der B. caps. sept. zur Differentialdiagnose auf Grund der Serodiagnostik überhaupt nicht herangezogen wurde. Ferner war die Thatsache, dass Stamm A. II und III von normalem Serum beeinflusst wurden, insoferne von Wichtigkeit, als dadurch die Möglichkeit nahegelegt wurde, dass auch andere diesen nahestehende Stämme (so vor allem A. I, IV und V) durch normales Serum in gleicher Weise beeinflusst werden konnten, und dass für agglutinirende Immunsera höhere Werthe als 1 : 1, die sich im normalen Serum unwirksam erwiesen, gefordert werden mussten, wenn dieselben als specifisch angesehen werden sollten.

Von den 16 untersuchten Immunsera zeigten nur 4 agglutinirende Wirkung auf den Immunstamm, eines war von unbestimmter Wirkung, die übrigen 11 ohne jeglichen Einfluss, selbst bei einem Verhältniss von 1 : 1. Positive Resultate gaben die Sera der Kaninchen 166, 278, 169 und 64, welche mit den Stämmen A. II bis V immunisirt worden waren, einen unbestimmten Befund Serum 287, welches von einem mit Stamm F. II vorbehandelten Thiere stammte. Unter dem Einfluss dieses Serums zeigte nämlich der homologe Stamm nach 6 Stunden beginnende Fadenbildung. Es bestand somit in diesem Falle zwar keine Agglutination, wohl aber schien ein anderes Phänomen, dessen Zustandekommen auf Rechnung eines im Serum enthaltenen Immunkörpers gesetzt werden konnte, vorhanden zu sein. Nach 24 Stunden aber war diese Erscheinung nicht weiter ausgebildet, wie zu erwarten gewesen wäre; vielmehr liess sich in dem Präparat mit Serumzusatz kein Unterschied gegenüber einem Controlpräparat feststellen.

Alle mit den übrigen Stämmen angestellten Versuche ergaben, wie schon gesagt, negative Resultate.

Die obere Verdünnungsgrenze der 4 agglutinirenden Sera wurde zwar nicht bestimmt, doch trat die Agglutination in fast allen Fällen bei einer Verdünnung 1 : 100 sicher ein. Mit Rücksicht darauf konnte die Agglutination mit Bestimmtheit als eine Wirkung der Immunsera angesprochen werden, nachdem normales Serum bei einer gleichen Verdünnung keine agglutinirende Wirkung mehr gezeigt hatte. Die Stämme A. II bis V waren als Beispiele des Escherich'schen Bac. lactis aërogenes reingezüchtet worden. Es scheint von Wichtigkeit, dass nur bei Immunisirung mit diesen Stämmen Agglutinine im Immunserum auftraten. Das Serum von Thieren, die mit verwandten Stämmen, jedoch anderer Herkunft wie aus cystitischem Harn, aus dem Respirationstract, behandelt worden waren, war wirkungslos: Besonders auffallend war dies für den Stamm A. IX, der aus dem Stuhl eines Erwachsenen stammte, in dessen Serum aber keine Agglutinine nachgewiesen werden konnten.

Mit der negativen Beantwortung der 2. Frage war auch die in Betreff heterologer Stämme gegeben. Doch konnte mit Rücksicht auf die Untersuchungen von Kraus und Donath die Möglichkeit, dass heterologe Stämme ohne möglichen Nachweis von Agglutininen für den homologen Stamm durch ein Immunserum agglutinirt würden, nicht ausgeschlossen werden. Dies bezog sich nach Angabe der Autoren namentlich auf Sclerom-stämme. Die Untersuchungen zeigten aber, dass von einer typischen constanten Erscheinung nicht die Rede sein kann. Es wurden zwar die Stämme Scl. I bis III durch verschiedene heterologe Immunsera so beeinflusst, dass sie einzelne Fäden oder beginnende Fadenbildung aufwiesen. doch trat diese Erscheinung nur bei einem Verdünnungsverhältniss 1:1 und nie in Form einer kräftigen vollkommenen Agglutination auf. Der B. caps. muc. Fasching, über dessen Stellung zum Sclerombacillus später noch die Rede sein soll, zeigte andererseits bei Zusatz eines heterologen Immunserums 2 Mal Häufchen-, 4 Mal Fadenbildung. Leider war es nicht gelungen, Kaninchen mit diesem Stamm zu immunisiren, da derselbe zu ausserordentlich schweren necrotischen Processen führte. Und auch bei verschiedenen anderen Stämmen wie z. B. F. II, O. II und III konnte unter Einfluss heterologer Immunsera Wachsthum in Fadenform nachgewiesen werden.

Nach diesen Untersuchungen scheinen die Befunde von Kraus und Donath keine specifische Bedeutung zu haben und wären nur mit Vorsicht als Stütze der Paltauf'schen Hypothese über das Verhalten des Sclerombacillus zum Friedländer'schen Kapselbacillus heranzuziehen. Immerhin ist es auffallend, dass der Bac. caps. muc. Fasching, welcher dem Sclerombacillus verwandt zu sein scheint, so häufig Veränderungen zeigte. Für diesen Stamm mag vielleicht dessen lange Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden, seit dem Jahre 1889, die im Sinne einer Entdifferenzirung gewirkt haben kann, in Betracht gezogen werden.

Wesentlich wichtiger waren die Befunde, welche sich auf die agglutinirenden Immunsera bezogen. Diese brachten nämlich nicht nur die homologen, sondern auch heterologe Stämme zur Häufchenbildung, unter den letzteren aber nur eine bestimmte Gruppe und zwar jene, welche denselben Fundort hatten, während alle übrigen unbeeinflusst blieben. Es wurden sämmtliche Stämme, die aus Säuglingsfäces reingezüchtet worden waren, durch jedes Immunserum dieser Stämme agglutinirt. In der Höhe der Agglutinationswerthe lagen deutliche Unterschiede vor. So wurden die Stämme A. II und IV immer vollkommen, A. I, III und V nicht vollkommen und nur bei schwächerer Verdünnung agglutinirt, obwohl auch hier, wie mehrmalige Controlversuche ergaben, Reinculturen vorlagen. Dieser Verdacht musste namentlich für Stamm A. I, der sich durch

Indolbildung von den Stämmen A. II bis V unterschied, widerlegt werden.

Wenn wir unsere Erfahrungen über die Agglutination des B. coli auf die hier gewonnenen Resultate anwenden, so kann aus denselben auf eine Nichtidentität der Stämme A. VI bis XII mit den Stämmen A. I bis V nicht geschlossen werden. Doch scheint es berechtigt, die letzteren von den ersteren als besondere Gruppe zu trennen, zumal mit Rücksicht darauf, dass die Stämme A. VI bis XII bei Immunisirung keine Agglutinine bildeten und sich hierin den Stämmen F. I bis V u. s. w. anschlossen.

B. Schutzwirkung.

In zweiter Reihe wurden die Immunsera auf schützende Wirkung bei Infectionen von Thieren geprüft; auch hier wurde diese Wirkung sowohl auf den homologen als auf heterologe Stämme untersucht. Die Versuche wurden mit den Stämmen F. I bis V, O. I, IV und IX, mit dem Serum der Thiere 147, 287, 157, 97, 21, 282, 92 angestellt und zwar an Mäusen und Meerschweinchen, für welche die genannten Stämme stark pathogen waren.

Weissen Mäusen wurde an der Schwanzwurzel eine sicher tödtliche Menge (1 Oese einer 24 oder 2 Mal 24 stündigen Agarcultur) unter die Haut eingerieben, danach sofort 1.0 ccm eines Immunserums intraperitoneal injicirt. Bei den Versuchen an Meerschweinchen wurde die ebenfalls sicher letale Dose (1 Oese einer Agarcultur) in einem Stamperglas in 1·0 bis 2·5 ccm eines Immunserums aufgeschwemmt und die Emulsion intraperitoneal injicirt.

Die folgenden Protokolle geben die Resultate wieder:

Tabelle III.

1. Versuch an weissen Mäusen am 17. I. 1900 12 Uhr Mittags.

Lfde. Nr.	Stamm	Impfmaterial	Resultat	Cultur aus d. Herzblut
1	F. I	1 Oese	Exitus am 20. I. 8h M. (68 Std.)	positiv
2		1 Oese + 1·0 ccm Serum 147	„ „ 22. I. 8h M. (116 St.)	„
3	F. II	1 Oese	„ „ 21. I. 8h M. (92 Std.)	„
4		1 Oese + 1·0 ccm Serum 287	„ „ 19. I. 8h M. (44 Std.)	negativ
5	F. IV	1 Oese	überlebt	—
6		1 Oese + 1·0 ccm Serum 157	„ „ 18. I. 10h M. (22 St.)	negativ
7	O. I	1 Oese	„ „ 19. I. 8h M. (44 Std.)	positiv
8		1 Oese + 1·0 ccm Serum 97	„ „ 20. I. 8h M. (68 Std.)	„
9	O. IV	1 Oese	„ „ 18. I. 4h N. (28 Std.)	nicht secirt
10		1 Oese + 1·0 ccm Serum 21	„ „ 18. I. 10h M. (22 St.)	negativ

Tabelle IV.

2. Versuch an Meerschweinchen am 7. II. 1900 3 Uhr Nachmittags.

Lfde. Nr.	Stamm	1 Oese Cultur aufgeschwemmt in	Resultat	Cultur aus d. Herzblut
1	F. I	1·0 ccm Kochsalzlösung	8. II. sehr krank, 9. II. Exitus	positiv
2		1·0 „ Serum 147	Exitus am 8. II. 5h Nachm.	„
3	F. II	1·0 „ Kochsalzlösung	8. II. wenig krank, überl. (24. II.)	—
4		1·0 „ Serum 287	8. II. matt, Exitus am 21. II.	negativ
5	F. III	1·0 „ Kochsalzlösung	8. II. gesund, Exitus am 14. II.	positiv
6		1·0 „ Serum 282	Exitus am 8. II. 10h Morg.	„
7	F. IV	2·5 „ Kochsalzlösung	8. II. krank, Exitus am 9. II.	„
8		2·5 „ Serum 157	8. II. gesund, überlebt (24. II.)	—
9	F. V	2·5 „ Kochsalzlösung	Exitus am 8. II. 10h Morg.	positiv
10		2·5 „ Serum 92	„ „ 8. II. 5h Nachm.	„

Tabelle V.

3. Versuch an Meerschweinchen am 23. II. 1900.

Lfde. Nr.	Gew. in grm	Stamm	1 Oese Cultur aufgeschwemmt in	Resultat	Cultur aus d. Herzblut
1	320	F. IV	2·5 ccm norm. Serum	Exitus am 24. II. 3h Nachm.	positiv
2	340		2·5 „ Serum 157	„ „ 24. II. 3h „	„
3	340		2·0 „ „ 157	24. II. krank, 28. II. zieml. frisch, Exitus am 11. III.	„
4	400		1·0 „ „ 157	24. II. frisch, überlebt (5. III.) (hat nach ca. 1 Monat einen haselnussgrossen Knoten in den Bauchdecken)	—

Tabelle VI.

4. Versuch an Meerschweinchen am 23. III. 1900 7 Uhr Abends.

Lfde. Nr.	Gewicht in grm	1 Oese vom Stamm	1·0 ccm vom Serum	Resultat	Cultur aus d. Herzblut
1	380	F. IV	normal	Exitus am 24. III.	positiv
2	380		157	desgl.	„
3	240		157	desgl.	„
4	250		21	desgl.	„
5	360	F. I	normal	Exitus am 25. III.	„
6	280		157	„ „ 24. III.	„
7	400	F. V	normal	desgl.	„
8	300		157	desgl.	„
9	240		157	desgl.	„
10	340	O. IX	normal	desgl.	„
11	260		157	desgl.	„
12	230		21	desgl.	„

Bei den Meerschweinchenversuchen wurde zur Controle stets ein Thier verwendet, dem die letale Dose in der gleichen Weise eingebracht wurde, wie dies im Versuch durch Aufschwemmen im Immunserum geschah. Hierzu wurde zuerst physiologische Kochsalzlösung, später, um auch die geringe baktericide Wirkung derselben auszuschalten, viel zweckentsprechender normales Serum verwendet, weil zugleich das vollkommene Fehlen einer Schutzwirkung durch Serum an und für sich erwiesen wurde. —

Wie die Protokolle zeigen, gelang es nicht, im Serum verschiedener immunisirter Thiere Schutzkörper nachzuweisen. Die bezüglichen Versuche sind derart einwandsfrei negativ, dass eine besondere Besprechung derselben unnöthig erscheint. Nur Folgendes sei zu denselben erwähnt.

Bei den Versuchen überlebten 2 Controlthiere; es waren dies eine mit Stamm F. IV geimpfte Maus und ein mit F. II inficirtes Meerschweinchen (2. Versuch). Der letztere Stamm hatte schon nach seiner Reinzüchtung eine geringe Pathogenität für Meerschweinchen gezeigt. Ein im März vorigen Jahres (siehe Tabelle XII am Schluss der Arbeit) mit 1 Oese intraperitoneal geimpftes Meerschweinchen war erst nach 8 Tagen mit positivem Bacillenbefund im Herzblut eingegangen. Eine Abschwächung der Pathogenität war leicht durch die lange Fortzüchtung ohne Thierpassage zu erklären. In derselben Weise ist vielleicht das Ueberleben der Maus bei Impfung mit Stamm F. IV zu erklären. Doch ist es auch möglich, dass es sich bei diesem Thier um eine individuelle Widerstandsfähigkeit handelte, da 2 andere mit der gleichen Menge desselben Stammes — allerdings früher — geimpfte Mäuse nach 36 bezw. 60 Stunden eingingen.

Umso auffallender war es, dass die Versuchsthiere, welchen diese beiden Controlthiere entsprachen, eingingen. Und zwar kam die Maus (Nr. 6 des 1. Versuches) schon nach 22 Stunden, das Meerschweinchen (Nr. 4 des 2. Versuches) erst nach 13 Tagen ad exitum, beide mit negativem Befund des Herzblutes, ebenso wie dies bei den Versuchsthieren Nr. 4 und 10 des 1. Versuches der Fall war, deren zugehörige Controlen erst später eingingen und positiven Befund zeigten. Danach scheint es, wie wenn die Immunsera nicht nur keine schützende, sondern eine geradezu schädigende Wirkung gehabt hätten.

Nachdem eine direct schädigende Wirkung des Serums wohl auszuschliessen ist, kann für diese Erscheinung vielleicht folgende Erklärung gegeben werden. Im Controlthier kommt es erst zu einer reichlichen Vermehrung der Bakterien bei einer anfangs geringen Auflösung derselben, die später zunimmt. Das Thier erliegt den freigewordenen giftigen Substanzen der Bakterienleiber, nachdem die Mikroorganismen Zeit hatten,

sich in den Geweben zu vermehren.[1] Im Versuchsthier kommt es unter Einfluss des Immunserums, dem ein ganz geringer, zur Schutzwirkung unzureichender und deshalb nicht nachweisbarer Gehalt von Antikörpern zukommt, zu einer raschen vollständigen Auflösung der eingebrachten Bakterien. Das Thier steht den schnell freigewordenen, überwältigenden Mengen von giftigen Proteïnen gegenüber, nachdem sich die Antikörper an der Zerstörung der Bakterien erschöpft haben. Es erliegt denselben, ja es geht früher zu Grunde als das entsprechende Controlthier, das nur auf seine eigenen Schutzkräfte angewiesen war, trotz oder richtiger gerade wegen der Einverleibung des Immunserums. Die Bakterien wurden aufgelöst, ehe sie sich vermehren und in die Gewebe eindringen konnten. So entfällt ihr Nachweis im Herzblut des todten Thieres.

Dieselben Vorgänge werden bei Besprechung des verschiedenen Verhaltens der Stämme in Bezug auf Thierpathogenität herangezogen werden müssen. Und es mag dieselbe Erklärung vielleicht auch zum Verständniss der sogenannten Ueberempfindlichkeit bei fortgesetzter Infection mit kleinsten Mengen eines Infectionserregers beitragen.

Schliesslich sei noch ein Resultat des 3. Versuches besprochen. Das 4. Meerschweinchen, dem 1·0 ccm Immunserum injicirt worden war, überlebte die Infection, während 2 andere Thiere nach Injection von je 2·5 und 2·0 ccm desselben Immunserums eingingen. Nur um die Einheitlichkeit dieses Versuches nicht stören zu lassen, sei betont, dass dieses Thier nach 1 Monat einen Hasselnuss grossen Knoten in den Bauchdecken zeigte, so dass wahrscheinlich ein Versuchsfehler in der Weise vorlag, dass die Injection nicht intraperitoneal, sondern subcutan oder wenigstens theilweise subcutan erfolgte.

C. Der Pfeiffer'sche Versuch.

Anschliessend an die Prüfung des Immunserums auf Schutzwirkung sei nur kurz über die Verwerthbarkeit des Pfeiffer'schen Versuches zur Differentialdiagnose innerhalb der Gruppe der Kapselbakterien berichtet. Sein Princip deckt sich ja mit dem der eben besprochenen Versuche.

Bezüglich der Litteratur lag eine Angabe von Duclaux[2] vor, nach welcher das Pfeiffer'sche Phänomen bei dem Friedländer'schen Pneumoniebacillus auftritt.

Es wurden in dieser Richtung nur einige wenige Versuche angestellt. Vor allem deshalb, weil eine Grundbedingung des Pfeiffer'schen Ver-

[1] A. Radzievsky, Ueber Infection. *Centralbl. f. Bakteriol.* Bd. XXVIII. S. 161.

[2] *Traité de Microbiologie.* Bd. II. p. 730.

suches, die Pathogenität des betreffenden Stammes für die verwendete Thiergattung, bei den ein Immunserum liefernden Stämmen A. I—V nicht vorhanden war.

Die Bakterien der Gruppe zeigten übrigens Kügelchenbildung, wie es Radzievsky auch in ausführlicher Weise für die Coligruppe beschrieb: wurde von einem nicht pathogenen Stamme (z. B. O. II, Scl. I) 1 Oese in 1 ccm normalen Serums aufgeschwemmt und einem gesunden Meerschweinchen in die Peritonealhöhle injicirt, so fanden sich schon nach 10 Minuten bei Entnahme einer Probe mit steriler Glascapillare zahlreiche Kügelchen; nach 45 Minuten waren nahezu keine Stäbchen mehr vorhanden, sondern ausschliesslich Kügelchen. In diesem Fall war also das Pfeiffer'sche Phänomen der Ausdruck der natürlichen Immunität des Thieres gegen den benutzten Stamm.

Hingegen zeigten pathogene Stämme wie F. I bei Emulsion 1 Oese in 1·0 ccm normalen Serums nach intraperitonealer Injection (Meerschweinchen) bei einstündiger Beobachtung nur vereinzelte Kügelchen. An den im Thierkörper sich rasch vermehrenden Bakterien konnte gut das Auftreten von Kapseln beobachtet werden.

Ueberblicken wir noch einmal kurz die Versuche, deren Zweck es war, die Serodiagnostik in der Gruppe der Kapselbacillen zu verwenden, so finden wir, dass durch die Agglutination nur ein kleiner Bruchtheil der untersuchten Stämme als zusammengehörige Gruppe festgestellt werden konnte, dass alle übrigen Stämme überhaupt keine Agglutinine bildeten, und dass Schutzkörper in dem Serum immunisirter Thiere nicht auftraten. Die Versuche zeigten, dass die Immunisirung mit den meisten Stämmen, und zwar F. I—V, B. m. c. F., O. I—IV, Scl. I, III, A. VII, X, XII, im Serum der betreffenden Thiere keine Entwickelung uns nachweisbarer Schutzstoffe zur Folge hatte. Diese Erscheinung bildet hiermit geradezu eine Eigenart der untersuchten Mikroorganismen.

Die serodiagnostische Methode war damit als unbrauchbar erwiesen, und es musste auf jene schon oft benützten Momente zurückgegriffen werden, um durch deren Erweiterung und genaue Feststellung unter möglichst gleichen Bedingungen die misslungene Differenzirung nochmals zu versuchen. Wenn es sich früher als zweckmässiger erwiesen hatte, von bestimmten, aber nicht bindenden, vom Fundort genommenen Bezeichnungen der Stämme auszugehen, so musste jetzt jeder einzelne Stamm als solcher beschrieben werden, da ja die Bakterien in verschiedener Localität doch identisch sein konnten. (Tabelle X am Schluss dieser Arbeit.)

II. Culturelles Verhalten.

Ohne zunächst auf die allgemeine Charakteristik der Kapselbacillengruppe einzugehen, sei unter den zahlreichen Autoren, welche den Umfang dieser Gruppe begrenzen, Fricke citirt, der seine Arbeit über den Bacillus mucosus capsulatus folgendermaassen einleitet:

„Die Bezeichnung „Bacillus mucosus capsulatus“ gebührt nicht ausschliesslich einer Bakterienart; sie kommt vielmehr einer Gruppe von Mikroorganismen zu, welche ihre Zusammengehörigkeit durch eine Reihe von constanten Eigenthümlichkeiten kund geben. Ausser der ihnen mit verschiedenen anderen Bakterienarten gemeinsamen Eigenschaft der Kapselbildung sind sie dadurch gekennzeichnet, dass sie auffallend grosse pleomorphe Stäbchen darstellen, welche keine Sporen bilden, keine Eigenbewegungen zeigen und nach der Gram'schen Methode für gewöhnlich sich nicht färben lassen; ferner haben sie die Eigenart, auf der Oberfläche der verschiedenen festen Nährböden in Gestalt von üppigen, schleimigen Auflagerungen zu wuchern, und im Gelatinestich, ohne dass jemals Verflüssigung eintritt, in mehr oder weniger ausgesprochener Weise die sogenannten Nagelculturen zu formen.“

Während die zuerst beschriebenen Eigenschaften wie Unbeweglichkeit, Kapselbildung, Pleomorphismus u. s. w. für den Nachweis im nativen oder gefärbten Deckglaspräparat Anhaltspunkte gaben, war durch die bekannte Eigenart dieser Bakterien, auf festen Nährböden üppige schleimige Auflagerungen zu bilden, in Combination mit den allmählich in der Litteratur bekannt gewordenen Fundstätten derselben, ein Fingerzeig für deren Reinzüchtung gegeben. Hierzu konnte die im Institut geübte Methode der Isolirung mittels Agarplatten benutzt werden und zwar mit Vortheil insofern, als schon das Aussehen der Agarculturen in gewissem Sinne specifisch sein musste.

A. Wachsthum auf Agar.

Während von verschiedenen Seiten (Bandler, Chiari, Fricke, de Simoni u. s. w.) Glycerin- oder auch Serumagar (Hebert) benutzt worden war, wurde in den eigenen Beobachtungen ausschliesslich Agar-Agar verwendet. Es lag kein Grund vor, das Wachsthum befördende Zusätze zu gebrauchen, da schon auf Agar allein üppiges Wachstum der untersuchten Stämme auftrat.

In der Litteratur finden sich äusserst zahlreiche Angaben, von denen die meisten Strich- und Stichculturen, nur wenige das makro- und mikroskopische Aussehen isolirter Colonieen auf der Platte beschreiben.

Die in den eigenen Untersuchungen beobachteten Stämme glichen sich sowohl unter einander als auch den anderen schon bekannten Arten.

Auf schief gelegtem Agar kam es zur Bildung eines mehr oder weniger erhabenen, durchscheinend grauweissen-graugelben oder auch grauen spiegelnden Rasens mit scharfer, glatter oder flachwelliger Begrenzung und verschiedener Consistenz. In den Stichculturen entwickelte sich eine analoge Oberflächenauflagerung mit körnigem oder mehr gleichmässig bandförmigem, grauweissem, weissem oder grauem Wachsthum im Stich. Analoge, fast gleichlautende Angaben finden sich in den Arbeiten von Abel, Bandler, Chiari, Dittrich, v. Dungern, Paltauf - v. Eiselsberg, Fricke, Gessner, Hebert, Herla und vielen anderen mehr. Doch ziehen nur einige wenige von den genannten Autoren bestimmte Momente im Aussehen dieser Culturen wie Durchsichtigkeit, Consistenz, Beschaffenheit der Oberfläche und Ränder, Ueppigkeit des Wachsthums (Abel, Bandler, Kockel, Löwenberg, Rydigier, de Simoni) als differential-diagnostisch verwerthbar heran.

Entsprechend der Methode der Reinzüchtung wurden die ersten Beobachtungen an isolirten Colonieen auf Agargussplatten angestellt. Diesbezügliche Beschreibungen hatten Bandler, Chiari, Dmochowski, Fricke, Gerber und Podack, Herla, Ali Krogius, de Simoni u. s. w. gegeben, deren Mehrzahl sich auf das makroskopische Aussehen der Colonieen bezog.

Es ist eine bekannte Thatsache, dass von den Symptomen, welche das Bild einer Colonie bedingen, zahlreiche nicht allein von der Eigenart der betreffenden Mikroorganismen, sondern auch von der Beschaffenheit der Nährböden bestimmt werden. So hängt die Farbe der Colonieen theilweise von der Farbe des Nährbodens, die Grösse der Colonieen von ihrer Anzahl auf der Platte ab. Nahezu alle untersuchten Stämme zeigten je nach Betrachtung der 1. 2. oder 3. Platte ganz verschiedene Grössen.

Verlässlichere Momente sind Erhabenheit und Glanz einer Colonie, ihre Oberflächen- und Randbeschaffenheit, wenn auch hier Schwankungen vorkommen, sowie ihre mikroskopische Zeichnung. In Betreff der erstgenannten Eigenschaft konnten für die untersuchten Stämme 4 Elevationsgrade unterschieden werden, welche ihren Ausdruck in den Bezeichnungen: kugelig erhabene oder halbkugelige Colonieen (F. I bis III, IX, X, O. III, VI, IX, Scl. III), flachkugelig erhabene oder kurzweg erhabene (F. IV bis IX, O. I, Scl. IV, A. III, A. VI), flach erhabene (B. c. m. F., O. II, IV, VII, VIII, Scl. I, II, A. II, IV, V, VII, VIII) und flache Colonieen (O. IV, Scl. I, B. c. Pf., A. V, VIII, IX bis XII, B. c. s.) finden sollten.

Eine allen Stämmen gemeinsame Eigenschaft war die scharf kreisförmige Gestalt der Colonieen, von der nur ein Stamm eine Ausnahme

machte. Doch wichen auch dessen Colonieen nur unwesentlich von den übrigen ab, indem die regelmässige Kreisform durch kleine Aus- und Einbuchtungen verwischt wurde. Wie die früher allgemein beschriebenen Strichculturen zeigten auch die isolirten Colonieen verschiedene Farbennuancen, die in allen Uebergängen von einer überhaupt geringen bis zu einer durchscheinend oder opakgrauweissen, graugelben oder grauen Eigenfarbe schwankten. Nach diesem Gesichtspunkt geordnet, zeigten die Stämme F. II, V, B. c. m. F., O. III bis V, Scl. I, II nur wenig Eigenfarbe; mehr oder weniger durchscheinend grauweiss waren die Colonieen von F. I, IV, VIII bis X, O. I, II, VIII, Scl. III, A. III, VI, VII, graugelb O. IX und Scl. IV, gelbweiss F. III und O. VI, undurchscheinend graue Colonieen bildeten Stamm O. VII, B. c. Pf., A. I, V, VIII bis XII, B. c. s. und endlich A. II und IV mit opaker, schmutzig weisser oder gelbweisser Eigenfarbe. Einige Stämme und zwar die als A. I bis XII, B. c. Pf. bezeichneten zeigten bei längerem Verweilen der Platten in der Brutkammer (3 bis 4 Mal 24 Stunden) eine Veränderung der Farbe der Colonieen, indem dieselbe opaker und mehr weiss wurde. Andere Stämme zeigten diese Erscheinung nicht oder nur in ganz geringem Maasse, so dass sich hierin ein deutlicher Unterschied darbot. Noch besser konnte dies an Strichculturen auf schief gelegtem Agar beobachtet werden, welche zugleich mit der Farbenveränderung einen Verlust des feuchten Glanzes zeigten. Es mag diese Erscheinung wohl mit der Austrocknung und zwar mit der rascheren Austrocknung in Folge einer geringeren Menge schleimiger Zwischensubstanz zusammenhängen.

Andere Eigenschaften wie Glanz, Consistenz, Wachsthumsüppigkeit, Rand- und Oberflächenbeschaffenheit der Cultur liessen sich ebenfalls besser an Strichculturen beobachten. Der intensive Glanz, die glatte, spiegelnde Oberfläche der Cultur ist eine der ganzen Gruppe zukommende Eigenthümlichkeit. Bei den meisten Stämmen war dies auch der regelmässige Befund; nur bei einigen wie A. IV, V, IX, XI fand sich eine unebene, runzlige oder chagrinirte Oberfläche. Die Randzone der Strichculturen ist meist höher als der centrale Theil, in dem die Cultur abfliesst, oft festonartig und mit einer pallisadenförmigen Zeichnung versehen. Der scharfe Randcontour ist entweder geradlinig oder kleingewellt (A. III, V, VII), nur ganz ausnahmsweise sogar gelappt (A. 11, 12).

Der verschiedenen Consistenz, welche ihren Ausdruck in dem langsamen oder raschen Abfliessen des Rasens in die Kuppe des Reagensröhrchens und in der Beschaffenheit des Condenswassers findet, wurde von Abel, Fricke, Kockel, Löwenberg, neuerdings namentlich von de Simoni besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Abgesehen davon, dass die Consistenz auch von dem Wassergehalt des Nährbodens abhängt, lassen

sich bei den untersuchten Stämmen weder so constante, noch so hochgradige Consistenzunterschiede erheben, welche zur Differentialdiagnose brauchbar wären. Vor allem zeigen die aus Ozaenasecret gezüchteten Stämme in dieser Hinsicht keine unbedingte Verschiedenheit gegenüber den anderen Stämmen. Auch aus Scleromfällen gezüchtete Stämme (Scl. II, IV) oder der als Friedländer's Bac. pneumoniae geltende Laboratoriumsstamm F. X waren stark abfliessend, so dass auf der Agaroberfläche nur eine dünne durchscheinende Schleimschicht zurückblieb. Andererseits zeigte der B. caps. m. Fasching eine so stark fadenziehende, zähe Beschaffenheit, dass es nur schwer gelang, den an der Agaroberfläche festhaftenden Belag mit der Oese abzustreifen.

Endlich wurde auch ein verschieden rasches Wachsthum der Arten auf Agar (Rydigier), namentlich aber in Gelatine (Wolkowitsch, Chiari) behauptet. Die differentialdiagnostische Unverwerthbarkeit dieses Momentes wurde von Paltauf betont, dessen Angabe, dass auch Scleromculturen bei Züchtung aus dem Thierkörper recht üppige Wucherung zeigen, gelegentlich der Isolirung des Stammes Scl. IV aus eben excidirtem Scleromgewebe bestätigt werden konnte. Bei längerem Fortzüchten auf künstlichen Nährböden zeigten die Scleromculturen allerdings die Neigung, sich langsamer und weniger üppig zu entwickeln.

Während den besprochenen Eigenschaften der Agarculturen eine unbedingte differentielle Bedeutung wegen ihrer grossen Variabilität und Abhängigkeit von äusseren Umständen nicht zukommt, scheint das mikroskopische Bild der Colonieen auf der Agarplatte einen gewissen Werth in dieser Richtung zu besitzen. Die eine Gruppe von Stämmen bildet Colonieen, welche im Centrum homogen graubraun oder dunkelbraun erscheinen, nach der Peripherie heller werden, entsprechend ihrem allmählichen Abblassen eine immer deutlicher hervortretende Granulirung erkennen lassen, deren hellgraubrauner oder blassbrauner Rand ausserordentlich deutlich und dicht gekörnt und deren Begrenzung vollkommen scharf ist, wobei der Contour bisweilen von einer oder zwei Reihen hintereinander gelagerter Stäbchen gebildet wird. Die Colonieen der anderen Gruppe sind central dunkelbraun, trüb, wie bestäubt aussehend, gegen die Peripherie nur wenig abblassend, die äusserste Randzone nach plötzlichem Uebergang immer hell und farblos, bald deutlich bald undeutlich granulirt, der Randcontour feinst gezähnelt.

Das mikroskopische Bild der 2. Gruppe zeigten die Stämme B. c. Pf., A. I bis XII, das erstbeschriebene die Stämme F. I bis X, B. m. c. F., O. I bis IX und Scl. I, IV, um von den Ausnahmen abzusehen, die einerseits O. I, VII und Scl. I, andererseits A. III und VII bildeten.

Schliesslich sei noch die radiäre Streifung der Colonieen auf der Agarplatte erwähnt, welche nicht nur die verschiedensten Stämme zeigten, sondern auch auf ein und derselben Platte ein Theil der Colonieen aufwies, ein anderer vermissen liess.

B. Wachsthum in Gelatine.

Durch die Bedeutung, welche Friedländer bei Beschreibung der „Mikrokokken der Pneumonie" den Gelatineculturen geschenkt hatte, war der Grund gegeben, warum auch alle folgenden Autoren ihre besondere Aufmerksamkeit diesen Culturen widmeten und ausführliche Beschreibungen derselben gaben. Hierbei waren es vor allem 3 Momente, welche als charakteristisch hervorgehoben wurden: die Nichtverflüssigung der Gelatine, das nagelförmige Wachsthum im Stich und die Braunfärbung alter Culturen.

Die Bedeutung der Nagelcultur scheint im Laufe der zahlreichen Beschreibungen von ihrer ursprünglichen Wesentlichkeit insofern etwas eingebüsst zu haben, als auch Gelatinestichculturen, welche die Aehnlichkeit mit einem „Tapezierernagel" nicht besassen, als „Nagelculturen" bezw. „Nagelculturen mit flachem Kopf" bezeichnet wurden. Mit Rücksicht darauf und die zahlreichen Beschreibungen von sonst typischen Kapselbacillen mit „weissgrauer flacher, feucht glänzender zähflüssiger Oberflächenauflagerung" (Nicolaier, Wright-Mallory, Wichlein, Fricke) kann dieser Eigenschaft keine wesentliche Rolle zugedacht werden. In den eigenen Beobachtungen bestätigte sich dies vollauf. Die Stämme B. c. Pf. und A. I bis XII zeigten niemals nagelförmiges Wachsthum; bei den übrigen Stämmen war dies die Regel, doch nicht ohne Ausnahme, indem bei wiederholtem Anlegen von Gelatinestichculturen der Stämme F. I bis V, B. m. c. F, O. I bis IV einmal auch nicht annähernd Nagelculturen, sondern nur flache oder flach erhabene oberflächliche Auflagerungen auftraten.

Analoge oder noch grössere Schwankungen konnten im Aussehen der Colonieen auf Gelatineplatten beobachtet werden. So zeigten dieselben Stämme einmal stecknadelkopfähnliche opak weisse, ein ander Mal flache, grauweise und leicht irisirende oberflächliche Colonieen.

Dittrich gegenüber, der eine Unterscheidung der Pneumonie- von den Sclerombacillen auf Grund von Farbenunterschieden seiner Gelatineculturen versuchte, wurde von Paltauf die Variabilität dieser Culturen mit folgenden Worten betont: „Die Entwickelung und Farbe des Köpfchens bei den Pneumoniebakterien hängt bekanntermaassen, abgesehen von der Art des Einstiches auch von der Consistenz der Gelatine und der Temperatur ab; wenn die entwickelten Bakterienmassen nicht so fest zu-

sammenhalten, sondern sich etwas ausbreiten, schneller wachsen, so wird das Köpfchen flacher, nicht intensiv weiss, sondern mehr durchscheinend."

Wenn sich somit auch die Gelatineculturen zur Differentialdiagnose innerhalb der Gruppe der Kapselbacillen als unbrauchbar erwiesen haben, so bleibt ihnen doch ein gewisser Werth zur Abgrenzung dieser Gruppe. Die Oberflächenauflagerung im Gelatinestich schwankt zwar in Bezug auf Farbe und Erhabenheit in weiten Grenzen, doch bleibt ihr immer eine gewisse Ueppigkeit des Wachsthums und Dichte der Farbe, welche bei anderen differential-diagnostisch in Betracht kommenden Mikroorganismen wie Bac. coli com., Bac. typhosus (Denys-Martin) nicht beobachtet werden.

Die Angaben über Bräunung der Gelatine in alten Culturen sind verschiedene. Friedländer, Fricke, Kreibich, Passet beschrieben dieselbe, Abel, Fasching, Löb, Mandry, Müller, Nicolaier, Paltauf, Pfeiffer finden sie nicht. Einen wechselnden Befund hatten Kockel und Wilde. Danach scheint die Braunfärbung der Gelatineculturen nichts weniger als eine constante Erscheinung zu sein.

Dasselbe Ergebniss hatten die eigenen Untersuchungen. In mehrere Wochen alten Stichculturen der Stämme F. II, O. I bis IV, VII, IX, X, A. II, IV, V, XI, XII und B. c. Pf. fand sich Bräunung der Gelatine, die bald nur geringgradig, bald mehr intensiv war und dann das obere erste bis zweite Drittel der Gelatinesäule einnahm. Alle übrigen Stämme bräunten die Gelatine nicht.

Die Bildung einer unter der Oberfläche gelegenen ringförmigen trüben Zone, wie dies Herla und Wilde gleichzeitig und unabhängig von einander, später Scheffer beschrieben, konnte nie beobachtet werden.

Das oft geschilderte Wachsthum im Gelatinestich selbst, wobei es zur Bildung kugeliger, mohnsamengrosser und grösserer weisser Körnchen kommt, welche später theilweise confluiren, bietet nichts Wesentliches.

C. Wachsthum in Bouillon.

Aus den zahlreichen Beschreibungen von Bouillonculturen der verschiedenen hierher gehörigen Stämme wurden in der Litteratur niemals Schlussfolgerungen auf ihre Identität oder Nichtidentität gemacht. Erscheinen ja Bouillonculturen nur in den seltensten Fällen derart charakteristisch, dass sie für die Diagnose eines Mikroorganismus wesentlich oder ausschlaggebend sind.

Alle in den eigenen Versuchen benutzten Stämme trübten die Bouillon gleichmässig dicht. Das Verhalten der Oberfläche und des Bodensatzes war nach Stamm und Wachsthumsdauer verschieden. Fast immer kam es zur Bildung eines Oberflächenhäutchens, welches sich nach 24 Stunden

in Form eines zarten, milchweissen, 1 bis 2 mm breiten ringförmigen Wandbeschlages zu entwickeln begann. Nach 2 bis 4 Mal 24 Stunden hatte sich entweder ein schleimiges schwer bewegliches, grauweisses, die Oberfläche der Bouillon fast ganz überziehendes Häutchen gebildet, welches sich erst bei stärkerem Schütteln in Form eines Bandes löste, während kein Bodensatz bestand, oder es fanden sich nur mehr Reste dieses oberflächlichen Häutchens in Form von schleimigen Flöckchen oder kurzen Bändchen, während sich in der Kuppe der Eprouvette ein Bodensatz angesammelt hatte, der beim Aufwirbeln vielfach noch die Gestalt des zu Boden gesunkenen Häutchens erkennen liess. Bei einigen der als A. I bis XII beschriebenen Stämme kam es zur Bildung eines dünnen trockenen, wenig fest haftenden Häutchens, das bald zu Boden sank. Das Sediment dieser Stämme war, wenn auch wolkig, flockig oder fadenziehend, doch nie so zäh und schwer beweglich, wie das der übrigen Stämme.

Die Consistenz der Bouillon wurde wesentlich nur von einem Stamm verändert, und zwar dem B. m. c. Fasching, dessen zähe Eigenart schon gelegentlich seines Wachsthums auf Agar hervorgehoben wurde.

Es muss betont werden, dass auch das Verhalten der Bouillonculturen von äusseren Umständen abhängt. So ist es nicht gleichgültig, ob die Bouillon schon nach 24 stündigem Wachsthum zur Beobachtung aus dem Thermostaten genommen und, was hierbei unvermeidlich ist, leicht geschüttelt wird. Der Wandbeschlag oder das theilweise gebildete Häutchen löst sich und sinkt zu Boden. Es kommt dann nicht mehr zu einem zusammenhängenden Wachsthum auf der Oberfläche, und eine derartige Bouilloncultur muss sich ganz wesentlich von einer anderen, deren Wachsthum ungestört blieb, unterscheiden. Es erhellt daraus, dass ein verschiedenes Verhalten der Bouillonculturen nur vorsichtig und beschränkt zu verwerthen ist.

D. Wachsthum auf Kartoffeln.

Die Zahl der Beschreibungen von Kartoffelculturen hierher gehöriger Stämme ist kaum zu übersehen. Und doch erbringt sie nur eine den verschiedenen Arten gemeinsame Eigenschaft: das üppige Gedeihen auf dem Kartoffelnährboden. Als Ausnahmen in dieser Hinsicht scheinen vorläufig die von Herla und Wright-Mallory beschriebenen Kapselbacillen dazustehen. Der letztere bildete eine dünne, zähe, farblose Schicht, das Wachsthum des ersteren war nur an dem glänzenden, glasigen Aussehen der Kartoffel zu erkennen. — Die Farbe der Kartoffelculturen wird in den zahlreichen Angaben als weiss, weisslich, weissgelblich, weissgrau, hellgrau, gelblich, bräunlichgelb bezeichnet. Diese geringen und subjectiv verschiedenen Farbennuancen waren differential-diagnostisch unbrauchbar.

Ueber einen in dieser Richtung vereinzelten Versuch sagt Kruse Folgendes: „Neuerdings will Ury auf die Kartoffelculturen ein grösseres Gewicht für die Diagnose legen: die Verwandten des Aërogenes sollen mit weiss- oder graugelber Farbe, die des B. coli mit bräunlicherem Ton auf diesem Nährboden wachsen. Einen gewissen Werth hat dieser Charakter auch nach Wilde's Untersuchungen, aber keine entscheidende Bedeutung."

In den eigenen Versuchen zeigten die Stämme fast durchweg ein üppiges Wachsthum auf der Kartoffel, indem es zur Bildung eines bald mehr, bald weniger erhabenen Rasens kam. Seine Oberfläche war zumeist schon von Beginn an feucht glänzend, bisweilen Anfangs trocken, fein gestichelt oder uneben, erst im Verlauf des weiteren Wachsthums feucht und glatt werdend, nur ausnahmsweise trocken bleibend. Sein Rand ist meist erhöht, oft bucklig aufgeworfen, um später überzufliessen und sich abzuflachen.

Die Farbe der Culturen wechselte: alle früher genannten mannigfaltigen Farbennuancen konnten, namentlich im Verlaufe eines mehrtägigen Wachsthums, beobachtet werden. Doch liess in jungen, d. h. 24stündigen Culturen, ein Theil der Stämme die Eigenart erkennen, keine oder nur wenig Eigenfarbe zu bilden, während die Culturen anderer Stämme nach derselben Zeit eine gelbe Farbe besassen. Zu den letzteren gehören die Stämme A. I bis XI, zur ersten Gruppe alle übrigen, wobei jedoch die Trennung keine scharfe war, sondern zahlreiche Uebergänge bestanden.

Das zweite Moment, welches stets bei Kartoffelculturen besonders beachtet wurde, ist die Gasbildung. Für Abel war es Anfangs (1. Mittheilung) mit ein Unterscheidungsmerkmal gewesen, um den von ihm in Ozaenasecret regelmässig gefundenen Kapselbacillus von dem Friedländer'schen zu trennen. Nach Angaben in der Litteratur kommt jedoch der Gasbildung nicht jene Regelmässigkeit zu, welche ihre Verwerthung im Sinne Abel's gestatten würde. Beispiele seien folgende Befunde von

Scheffer: bisweilen Gasentwickelung.

Gessner: einmal nach 4 Tagen kleine Glasbläschen.

Bandler: hie und da spärliche Gasbildung.

Kockel: öfters Gasbildung.

Nicolaier: zuweilen Gasbildung.

Jede dieser Angaben bezieht sich auf nur einen Stamm.

Die Unregelmässigkeit und Unzuverlässigkeit der Gasbildung wird vollends durch die Thatsache bestätigt, dass Abel in seiner zweiten Mittheilung, gestützt auf weiteres Untersuchungsmaterial, feststellen musste, dass auch aus Ozaenasecret gezüchtete Stämme auf Kartoffeln Gas bilden. So zeigte auch von den beiden Stämmen, die Hr. Docent Abel mir zu senden die Güte hatte, der eine schon nach 3 × 24 Stunden Gasbildung,

der andere einen unsicheren Befund, indem sich nach 9 Tagen auf der Oberfläche kleinste Dellen fanden, wie sie nach Gasbläschen zurückbleiben, ohne dass diese selbst zu beobachten gewesen wären.

Von den untersuchten Stämmen zeigten:

Gasbildung: F. I, IV, VI bis IX, B. c. m. F., O. I, II, IV bis VI, VIII, IX, B. c. Pf., A. II bis VIII, X.

Keine Gasbildung: F. II, III, V, X, Scl. I bis IV, A. I, IX, XI, B. c. s.

Unsichere Befunde (bezw. keine Angabe): O. III, VIII, A. XII.

Das erste Auftreten der Gasbläschen konnte bei den positiven Stämmen nach verschieden langem Wachsthum beobachtet werden:

nach 24 Stunden bei O. V,
„ 2 × 24 „ „ B. c. m. F., O. I, IV, A. IV, V, VII und X,
„ 3 × 24 „ „ F. IX, O. II, B. c. Pf., A. III und VI,
„ 4 × 24 „ „ F. VII.
„ 5 × 24 „ „ F. IV, VI, O. VIII, IX, A. II und VIII,
„ 8 × 24 „ „ F. I.

Bei den Stämmen F. VIII und O. VI findet sich keine Zeitangabe. Die Intensität der Gasbildung war eine verschiedene; sie stand in keinem regelmässigen Verhältniss zum Zeiteintritt derselben.

Zur Consistenz des Rasens auf der Kartoffel muss bemerkt werden, dass dieselbe namentlich bei den im Ozaenasecret gezüchteten Stämmen (O. I bis IX) dünnflüssig war, so dass diese Stämme rasch und reichlich abflossen, wenn auch diese Eigenschaft nicht ihnen allein zukam (vgl. S. 33). Die zähe fest haftende Beschaffenheit des B. c. m. F. machte sich auch auf der Kartoffel geltend.

Eine Verfärbung des Kartoffelfleisches konnte analog der Gelatinebräunung bei den verschiedensten Stämmen beobachtet werden. —

Ein Ueberblick über das ausführlich besprochene culturelle Verhalten der untersuchten Stämme zeigt, dass absolute Characteristica einzelner Arten nicht gefunden wurden. Wohl konnten in jedem Nährboden verschiedene Merkmale festgestellt werden, deren Wechsel und Verschiedenheit mit Artunterschieden vielleicht in Zusammenhang gebracht werden kann. Doch ist ihre Verwerthbarkeit mit Rücksicht auf ihre Abhängigkeit von äusseren Umständen und auf das reichliche Vorhandensein von Uebergangsformen eine sehr bedingte. Besser können sie zur Abgrenzung der Gruppe und Unterscheidung nahe stehender Mikroorganismen dienen. Solche Merkmale sind vor Allem das Verhalten der Eigenfarbe in Agar und Kartoffelculturen, das mikroskopische Bild isolirter Colonieen auf der Agarplatte, die Bodensatz- und Oberflächenbeschaffenheit der Bouillon, schliesslich in gewissem Sinne das Auftreten der typischen Nagelcultur im Gelatinestich.

III. Biologisch-chemische Eigenschaften.

Durch weitere Methoden sollten neue Untersuchungsmerkmale festgestellt werden, um die gefundenen zu ergänzen und zu stützen. Gerade die biologisch-chemischen Eigenschaften liessen eine Constanz erhoffen. Wider Erwarten hatte allerdings schon die Beobachtung der Gasbildung auf Kartoffelculturen Unregelmässigkeiten und Schwankungen ergeben. Auch bei diesen Versuchen kam die Abhängigkeit der Befunde von der Methodik zur Geltung.

A. Indolbildung.

Die Indolreaction wurde nach den Angaben Salkowski's in folgender Weise ausgeführt (Lehrbuch von Heim): Röhrchen, welche 10 ccm Bouillon (1 Procent Witte-Pepton) enthielten, wurden mit je 1 Oese einer frischen Agarcultur beschickt, 4 × 24 Stunden im Thermostaten belassen, dann denselben 1 ccm einer $^{2}/_{10}$ promilligen Kaliumnitritlösung und 2 bis 3 Tropfen einer concentrirten Schwefelsäure zugesetzt. In jüngster Zeit haben Grimbert und Legros mit Berufung auf eine unbekannt gebliebene Arbeit von Péré[1] darauf aufmerksam gemacht, dass zur Prüfung der Indolbildung nicht peptonisirte Bouillon, sondern wässerige Lösungen von Pepton zu verwenden seien, da die erstere die Indolproduction hemmen, ja sogar hindern könne.

Die eigenen Versuche wurden jedoch ebenso wie alle in der Litteratur angestellten — Herla benutzte sowohl Bouillon wie Peptonwasser — mit Bouillon ausgeführt.

Im Allgemeinen kann das Fehlen der Indolbildung als die Regel für die Gruppe der Kapselbacillen bezeichnet werden. Bis jetzt finden sich in der Litteratur nur folgende Ausnahmen beschrieben: Der von v. Dungern aus einem Fall von hämorrhagischer Sepsis beim Neugeborenen gezüchtete Kapselbacillus gab schwach positive Indolreaction; ebenso das von Scheffer aus einer diphtheritischen Membran gezüchtete und als Aërogenes angesprochene Bacterium. Wilde fand unter 25 Culturen nur den „Bacillus aus Erde“ indolbildend; ebenso verhielt sich der von W. Müller aus Sputum gezüchtete Kapselbacillus.

In den eigenen Untersuchungen war die Indolreaction nur in drei Fällen positiv, in allen übrigen negativ. Die positiven Befunde betrafen die Stämme A. I, IX und XII, deren Stellung durch diese Eigenschaft besonders präcisirt wurde, worauf später noch ausführlich eingegangen werden soll.

---

[1] *Annales de l'Institut Pasteur.* 1892. T. VII. p. 512.

B. Milchcoagulation.

Neben den Angaben über Vorhandensein oder Fehlen der Milchcoagulation, wie sie sich bei Beschreibung zahlreicher Einzelstämme in den Mittheilungen von v. Dungern, Gessner, Halban, Herla, Kockel, Kreibich, Müller, Scheffer, Wright und Mallory finden, wurde frühzeitig dieses Phänomen zur Differentialdiagnose herangezogen. So zuerst von Paltauf, der später selbst den von ihm aufgestellten Unterschied zwischen Pneumonie- und Ozaenabacillen einerseits (coagulirend) und Sclerombacillen andererseits (nicht coagulirend) fallen liess, da er auch Stämme der ersten Art die Milch nicht verändern sah. Später von Löwenberg, der Milchcoagulation wohl nach einer gewissen Zeit bei den Pneumobacillen, nie aber bei den von ihm gezüchteten Mikroorganismen der Ozaena fand, eine Beobachtung, die Abel nicht bestätigen konnte. Fricke und Wilde studirten in ausführlicher Weise das Wachsthum in Milch. Letzterer konnte nach seinen Befunden den von ihm aufgestellten Typen I bis III (B. lactis inocuus, Scleromb., B. pneumon. Friedl.) die Fähigkeit der Milchcoagulation ab-, dem vierten und fünften Typus aber (Bac. aërogenes, B. coli immobilis) zusprechen. Fricke fand bei Untersuchung seiner zahlreichen Mucosusstämme fast immer Milchcoagulation, deren Eintritt aber zeitlich so grossen Schwankungen unterworfen war, dass ein und derselbe Stamm, der meistens die Milch nach 2 bis 3 Tagen zur Gerinnung brachte, dieselbe zuweilen auch schon nach 24 Stunden coagulirte, hier und da aber selbst nach 8 Tagen nicht veränderte.

Diese Frage nach der Beständigkeit oder Veränderlichkeit der Eigenschaft der Milchcoagulation war schon 3 Jahre früher von Denys und Martin gelegentlich ihrer Untersuchungen über die Beziehungen des Friedländer'schen Pneumobacillus zum B. lactis aërogenes aufgeworfen worden. Sie fanden, dass drei Friedländerstämme, welche bei der ersten Untersuchung die Milch nicht veränderten, nach Fortzüchtung in diesem Nährboden in der sechsten Generation schon nach 14 Stunden Milch zur Coagulation brachten, ebenso wie dies der untersuchte Aërogenes that. Wilde gelang zwar einmal der folgende Versuch: Ein mit spontan, aber nicht sehr fest geronnener Milch erfülltes Röhrchen wurde sterilisirt und nach Prüfung auf Sterilität mit einer Friedländercultur geimpft; aus diesem Röhrchen wurde dann nach einigen Tagen ein anderes mit nicht geronnener steriler Milch gefülltes geimpft; in diesem trat schwache Gerinnung und saure Reaction nach einigen Tagen auf; bei einer Uebertragung aus diesem letzten Röhrchen auf ein drittes war diese Eigenschaft wieder verschwunden; es trat keine Coagulation ein. Weitere Versuche,

die Beobachtungen von Denys und Martin zu bestätigen, blieben erfolglos. Auf die in Frage gestellte Verwerthbarkeit der Milchcoagulation ist es wohl zurückzuführen, dass de Simoni in seiner jüngsten Arbeit bei Scheidung der Mucosusbacillen in drei Gruppen so wenig Gewicht auf dieses Moment legte.

In den eigenen Versuchen wurde die Milchcultur mit je 1 Oese einer frischen Agarcultur beschickt, bei 37° wachsen gelassen und von 24 zu 24 Stunden der Befund notirt. Die Beobachtung erstreckte sich über mehrere Wochen. Zur Controle des Wachsthums und der Reinheit der Culturen wurden schliesslich Agar-Gussplatten oder Strichculturen angelegt.

Die untersuchten Stämme lassen sich in zwei Gruppen theilen:

1. Ohne eine Gerinnung der Milch zu verursachen, wuchsen: F. I bis X, B. c. m. F., Scl. I bis IV, O. II, V, VII und VIII;
2. mit Milchcoagulation: A. I bis XII, B. c. Pf., O. I, III, IV, VI, IX. B. c. s.

Die letzteren Stämme zeigten nach der Zeit der vollendeten Milchgerinnung folgende Abstufungen:

Rasche Coagulation (vollkommen nach 24, längstens 2 × 24 Stunden): A. I bis XII.
Verlangsamte „ : B. c. Pf., O. I, III, IV.
Langsame „ : O. VI, IX, B. c. s.

Das Resultat dieser Untersuchung ist ein einheitliches und deshalb gut verwerthbares: die Stämme A. I bis XII unterscheiden sich von allen übrigen durch das prompte Auftreten der Milchgerinnung. Ihnen steht der von Fasching beschriebene Kapselbacillus, die aus Scleromfällen gezüchteten und die bei der Isolirung aus den verschiedensten Localisationen gewonnenen, zunächst nach dem Hauptrepräsentanten der Gruppe als Friedländer'sche Pneumobacillen aufgefassten Bakterien gegenüber. Die im Ozaenasecret gefundenen Stämme verhalten sich verschieden; wenn sie die Milch coaguliren, so geschieht dies erst nach mehrtägigem Wachsthum. Die von Pfeiffer und Bordoni-Uffreduzzi gefundenen Kapselbacillen erzeugen nach 3 bezw. 6 Tagen Milchgerinnung.

Um auch die Versuche von Denys und Martin zu wiederholen, wurden die nicht coagulirenden Stämme F. I, VI, VIII, O. II, V, VII in sieben folgenden Generationen in Milch gezüchtet. Die Uebertragung von Milch zu Milch erfolgte nach 24 Stunden. Trotz üppigen Wachsthums in allen Generationen, wie dies Controlstrichculturen aus der siebenten Passage zeigten, trat bei 5- bis 12 tägiger Beobachtung niemals Milchgerinnung oder auch nur eine Andeutung derselben auf.

Mögen die Beobachtungen von Denys und Martin richtig oder unrichtig sein, so scheint es doch nicht berechtigt, aus dem Auftreten der

Milchcoagulation nach Fortzüchten mehrerer Generationen in diesem Nährboden, das eine Anpassungserscheinung sein mag, auf die Identität mit einem anderen culturell ähnlichen, ständig die Milch coagulirenden Mikroorganismus zu schliessen.

C. Lackmusmolke.

Obwohl durch Petruschky, der bei Anwendung der Lackmusmolke zur Differenzirung des Typhusbacillus von ähnlichen Bakterien schon den B. pneumoniae Friedländer's zum Vergleich herangezogen hatte, die Aufmerksamkeit auf diese Methode hätte gelenkt werden können, waren in der zugänglichen Litteratur doch nur drei diesbezügliche Angaben aufzufinden.

Fasching, wahrscheinlich unter Einfluss der erwähnten Arbeit Petruschky's, fand, dass bei Züchtung seines Kapselbacillus in Lackmusmolke diese schon nach 24, deutlicher aber nach 48 Stunden Rothfärbung zeigte, welche nach 72 Stunden wieder zurückging und nach 4 Tagen einer entschiedenen Bläuung wich; die Säurebildung erreichte 7·2 bis 8 Procent $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge.

Eine weitere Angabe findet sich in der Arbeit Nicolaier's: „Wird der Bacillus in der nach Petruschky's Angaben dargestellten Lackmusmolke gezüchtet, so zeigt sich, dass derselbe zunächst Säure bildet. Die rothviolette Farbe der Nährlösung wandelt sich nämlich bei 37° C. nach ca. 24 Stunden in eine rothe um, und diese Farbe bleibt in den mit Watte verschlossenen Gläschen 3 Tage, in den ausserdem mit einer Gummikappe bedeckten 6 Tage bestehen, blasst dann etwas ab und geht wieder in eine bläulichrothe und schliesslich in eine blaue über. In der Nährlösung bildet sich ausserdem eine Trübung, später ein Bodensatz. Eine Entfärbung des lackmushaltigen Nährsubstrates tritt nicht ein, so dass der Bacillus keine reducirenden Eigenschaften hat."

Schliesslich berichtet Müller, dass der von ihm aus Sputum gezüchtete Kapselbacillus in Lackmusmolke Säure bildete.

Leider wurde die eben citirte Beobachtung Nicolaier's zu spät bekannt, so dass sie zur Methodik der eigenen Versuche nicht verwerthet werden konnte. Bevor nämlich noch alle untersuchten Stämme reingezüchtet worden waren, wurde für einen Theil derselben die Veränderung der Lackmusmolke bestimmt. Hierbei wurden die mit Wattepfropfen versehenen Röhrchen ohne Gummikappenbedeckung in die Brütkammer gestellt. Als später alle Stämme isolirt waren, wurde noch einmal der Versuch wiederholt, diesmal mit Benutzung von Gummikappen.

Tabelle VII.

Reactionsbestimmung der Lackmusmolke bei und ohne Luftzutritt [in Procenten der zugesetzten Normal-Natronlauge (L) und -Schwefelsäure (S)].

Stamm	F. I	F. II	F. III	F. IV	F. V	B. c. m. F.	O. I	O. II	O. III	O. IV
bei Luftzutritt	4·5 L	7·0 L	5·5 L	5·0 L	4·0 L	3·0 S	11·5 L	2·5 L	4·5 L	11·5 L
ohne Luftzutritt	1·5 L	7·0 L	5·5 L	6·0 L	3·0 L	**neutral** (war sauer)	4·0 L	5·5 L	6·5 L	7·5 L

Stamm	Scl. I	Scl. II	Scl. III	A. I	A. II	A. III	A. IV	A. V	B. c. s.
bei Luftzutritt	2·0 S	1·5 S	1·0 S	12·5 L	11·5 L	16·0 L	15·0 L	14·0 L	7·2 L
ohne Luftzutritt	**neutral** (war sauer)	1·5 L (war stärker sauer)	1·2 L (war stärker sauer)	10·0 L	19·5 L	16·0 L	16·0 L	13·0 L	8·5 L

Bei Vergleich der beiden für eine Anzahl von Stämmen unter sonst gleichen Wachsthumsverhältnissen gewonnenen Reactionswerthe fand sich, dass die Veränderungen der Lackmusmolke bei ungehindertem Luftzutritt rascher auftraten, eine Bestätigung der Angabe Nicolaier's. Aeussere Umstände machten es aber unmöglich, den Versuch in dieser Weise für alle Stämme zu wiederholen.

Die Technik gestaltete sich also folgendermaassen: Röhrchen, welche je 10 ^{ccm} der von Grübler bezogenen Petruschky'schen Lackmusmolke enthielten, wurden mit je 1 Oese einer frischen Agarcultur beschickt, mit einer luftdicht schliessenden Gummikappe bedeckt, nebst einem Controlröhrchen 10 Tage bei 37° gehalten, dann die Reaction der durch das Bakterienwachsthum veränderten Lackmusmolke unter Benutzung des Controlröhrchens als Farbenindex bestimmt und mit $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge bezw. $^1/_{10}$ Normal-Schwefelsäure austitrirt. Die verbrauchten Zehntel der Normallösungen gaben so ohne Weiteres die Reactionsgrösse in Procenten an (Petruschky).

Für Hülfe und Rathschläge, die mir gelegentlich dieser und der folgenden Versuche Hr. Dr. E. P. Pick gab, bin ich zu bestem Dank verpflichtet. —

Die Reaction der Lackmusmolke wurde zweimal neutral, in den übrigen Fällen immer sauer gefunden; dreimal jedoch hatte zur Zeit der Untersuchung die sauere Reaction schon ihren Höhepunkt überschritten, wie dies aus der wieder abklingenden Rothfärbung erkannt werden konnte. Bei unbehinderter Luftzufuhr hatte in zwei dieser Fälle (Scl. I, II) sogar Alkalescenz bestanden. Die Werthe der Säurebildung schwankten in

weiten Grenzen. Für die Stämme F. I bis X und O. I bis IX liessen sich als einzige Regelmässigkeit niedere oder mittlere Säuregrade feststellen, während A. I bis XII mit Ausnahme von drei Stämmen starke Säurebildner waren. Diese Ausnahmen betrafen die Stämme A. I, IX und XII, welche im Gegensatz zu allen übrigen positive Indolreaction gezeigt hatten. Der B. c. Pf. erwies sich als äusserst kräftiger, der B. c. s. als mittlerer Säurebildner.

Somit ergiebt die Züchtung in Lackmusmolke mit folgender Reactionsbestimmung differential-diagnostisch verwerthbare Befunde, welche die Stellung der Stämme B. c. m. F., Scl. I bis IV, A. I bis XII, B. c. Pf. sehr wesentlich bestimmen.

D. Vergährung von Zuckerarten.

In der Litteratur liegen, wenn auch nicht systematische, so doch zahlreiche Untersuchungen vor, welche sich mit der Vergährung einer oder mehrerer Zuckerarten beschäftigen. Hierbei wurden die Gas- oder Säurebildung, nur in den seltensten Fällen die Gährungsproducte in qualitativer oder quantitativer Weise studirt.

Um eine kurze Uebersicht über die diesbezüglichen Arbeiten zu geben, seien als die ersten die von Fasching, Smith und Paltauf genannt, denen später die Mittheilungen von Denys und Martin, Nicolaier, Abel, Fricke, Herla, Wilde. Grimbert und Legros, sowie die gelegentlichen Angaben über Traubenzuckervergährung von Kreibich, Halban, Scheffer, Müller folgten.

Während Fasching bei Wachsthum seines Kapselbacillus nur Säurebildung in 1 Procent Traubenzucker festgestellt hatte, bemühte sich Smith, einige dem Pneumoniebacillus nahestehende Kapselbakterien aus dem Darme des Schweines durch genaue Prüfung ihrer Gährthätigkeit von einer zur Controle dienenden Friedländercultur zu differenziren. Smith benutzte hierzu Gährungskölbchen, welche mit Bouillon gefüllt waren, die $^1/_4$ Procent Pepton und 2 Procent Glukose bezw. Saccharose oder Lactose enthielten. Die Intensität der Gasbildung wurde durch die Röhrenlänge in Centimetern, welche durch Gase in Beschlag genommen wurde, ausgedrückt. Von Smith's Resultaten sei nur erwähnt, dass er für den untersuchten Friedländerstamm mittelstarke Vergährung von Trauben- und Rohrzucker, geringe von Milchzucker beobachtete.

Paltauf züchtete die Pneumonie- und Sclerombacillen in 1 procentiger Traubenzuckerbouillon, der kohlensaures Magnesia zugesetzt war. Nach 24 Stunden war in allen Fällen Wachsthum und Gasbildung zu bemerken. Als nach 12 Tagen die Culturen auf ihren Zuckergehalt geprüft

wurden, war in den Culturen der Pneumobacillen der Zucker vollständig vergährt worden, in denen der Sclerombacillen aber noch theilweise (33 Procent) vorhanden.

Denys und Martin wurden durch ihren Befund an drei Friedländerstämmen, welche nach 1jährigem künstlichen Fortzüchten das Vermögen der Gasbildung, nicht aber das der Zuckerzersetzung verloren hatten, zu einem Vergleich dieser Stämme mit dem Typhusbacillus verleitet. Auch sie bestimmten die Menge der gebildeten Säure und des restirenden Zuckers nach 24 und 48 Stunden.

Die Befunde von Nicolaier, Abel und Herla beziehen sich auf die von ihnen reingezüchteten Kapselbacillen.

Fricke untersuchte für seine Mucosusstämme die Gasentwickelung in Stichculturen und zwar sowohl in Gelatine wie in Agar. Dieselbe fehlte nur selten, war in den meisten Fällen lebhaft, bisweilen gering. Es zeigte sich eine Uebereinstimmung weder für die einzelnen Stämme, noch für die verschiedenen Zuckerarten. Fricke schenkte deshalb diesen Befunden wenig Werth.

Wilde benutzte Traubenzuckeragar und Milchzuckerbouillon, beides 2procentig. In dem ersteren konnte nur die Gas-, in dem letzteren auch die Säurebildung durch Austitriren mit $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge bestimmt werden. Die Verwerthbarkeit der Resultate war jedoch eine geringe. Es sei nur hervorgehoben, dass die drei untersuchten Sclerombacillen keine Gasbildung in Traubenzuckeragar, keine oder sehr geringe Säurebildung in Milchzuckerbouillon zeigten, und dass die beiden Aërogenesculturen, welche den Traubenzucker energisch zersetzten, in Milchzuckerbouillon nur geringe Mengen Säure bildeten. Die übrigen Stämme verhielten sich nicht einheitlich entsprechend ihrem Fundort.

Schliesslich machten Grimbert und Legros genaue quantitative Angaben über die Vergährung verschiedener Kohlenhydrate durch zwei Aërogenesstämme, um im Anschluss an eine frühere Arbeit von Grimbert die von Denys und Martin aufgeworfene Frage der Identität des Bac. lactis aërogenes und B. pneumoniae weiter zu verfolgen. Sie benutzten 3procentige Lösungen, denen eine zur Neutralisirung der gebildeten Säuren hinreichende Menge von kohlensaurem Kalk zugesetzt war. Die Untersuchungen wurden nach 15 Tagen angestellt.

Von den genannten Autoren glaubten also nur Smith, Paltauf, Denys und Martin, Wilde und Grimbert-Legros ihre Resultate differential-diagnostisch verwerthen zu können. Die Abhängigkeit derselben von mannigfachen Umständen wurde besonders von den Letztgenannten hervorgehoben: „On sait, en effet, que l'equation d'une fermentation varie à chaque instant sous l'influence de facteurs parmi les quels l'âge et

l'éducation de la semence jouent le principale rôle; on ne saurait donc espérer avoir des chiffres absolument identiques en employant des semences d'origine différente, mais ce sur quoi on est en droit de compter c'est sur des réactions de même ordre."

In den eigenen Untersuchungen wurde 2 procentige Trauben-, Milch- und Rohrzuckerbouillon verwendet. Um den Muskelzucker auszuschalten, wurde das zerkleinerte Fleisch 2 × 24 Stunden stehen gelassen und zu allen Versuchen die Bouillon einer Bereitung verwendet. Die Zuckerbouillon wurde in Smith'sche Gährungskölbchen verfüllt, welche bekanntlich aus einem geschlossenen röhrenförmigen und einem offenen, mit dem

Graphische Darstellung der Säurebildung in Trauben- (——), Milch- (- - - -) und Rohrzucker (-·-·-).

ersteren communicirenden kugeligen Schenkel bestehen. Nach der üblichen Sterilisirung wurden dieselben mit je 1 Oese einer jungen Agarcultur beschickt und nach 3 tägigem Wachsthum bei 37° die Gas- und Säurebildung quantitativ bestimmt; die erstere, indem die im geschlossenen Schenkel angesammelte Gasmenge durch einen Bruchtheil der Länge dieses Schenkels ausgedrückt wurde, die Säurebildung durch Austitriren von 10 ccm mit $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge auf Phenolphtaleïn.

Nach der Gasbildung lassen sich die untersuchten Stämme in drei Gruppen eintheilen: in solche, welche trotz guten Wachsthums in keiner der drei Zuckerarten Gas bildeten: hierher gehören die Stämme F. V,

B. c. m. F., Scl. I bis IV. Sie waren trotzdem starke Säurebildner. Zweitens in solche, welche sich in den verschiedenen Zuckerarten verschieden verhielten, d. h. bald Gasbildung zeigten, bald diese vermissen liessen: O. III, VIII, IX. Diese Gruppe ging unscharf in die dritte über, welcher alle übrigen Stämme angehörten, die immer, bald sehr intensive, bald äusserst geringe Gasbildung zeigten. Die Befunde waren so wechselnd und mannigfach, dass sie nur das eine Resultat ergaben: die Stämme A. I bis XII sind mit einigen wenigen Ausnahmen in allen drei Zuckerarten die stärksten Gasbildner.

Aus der graphischen Darstellung der Säurebildung (S. 46) ist die Unregelmässigkeit ihrer Werthe leicht zu erkennen. Soweit Schlüsse überhaupt möglich sind, scheinen dieselben zu zeigen, dass sich die Stämme A. I bis XII von allen übrigen durch stärkere Säurebildung in Milchzucker und geringere Säurebildung in Rohrzucker unterscheiden.

Weitere Differenzirungsmomente zur Aufstellung verschiedener Species waren durch diese Methode nicht gegeben.

Anschliessend an diesen Theil seien Versuche nur erwähnt, in denen nach Angabe Rothberger's gefärbte Nährböden (Neutralroth-, Indigcarmin-, Methylenblau-, Safraninagar) verwendet wurden, doch ohne Erfolg. Ebenso mussten die negativen Erfahrungen von Hebert und Sicard über die Anwendung der Methode von Wurtz — Wiederbesäung alter Culturen eines Stammes mit einem anderen Stamme — bestätigt werden. —

Die Resultate, welche die Untersuchung der biologisch-chemischen Eigenschaften ergeben hatte, waren nur zum Theil differentialdiagnostisch verwerthbar.

IV. Thierpathogenität.

Die enorme Zahl hierher gehöriger Versuche in der Litteratur kann nur auf Rechnung der leichten Ausführbarkeit dieser Methode gesetzt werden. Die verschiedensten Thierarten wurden mit beliebigen Mengen von Impfmaterial inficirt. Der Ort der Infection wurde weder systematisch noch kritisch gewählt. So kam es, dass Mäuse, Meerschweinchen, Kaninchen, Hunde, Tauben, Ratten, Katzen, Hamster, Fledermäuse, Sperlinge subcutan, intra-peritoneal, -pleural, -pulmonal, -tracheal, -musculär und -venös geimpft wurden. Zur Differentialdiagnose haben alle diese Thierversuche nur wenig beigetragen.

Es ist deshalb unnöthig, über alle diese Beobachtungen einen Ueberblick zu geben. In Kürze seien nur die wichtigsten Resultate derselben hervorgehoben:

Nach der ersten Mittheilung Friedländer's galt der nach ihm genannte Pneumoniebacillus als für Mäuse stark, für Meerschweinchen wechselnd, für Kaninchen nicht pathogen. Abel und Löwenberg legten besonderes Gewicht auf die Pathogenität der Ozaenabacillen für weisse Mäuse bei subcutaner Infection, die von Wilde nicht immer gefunden, von Hebert und Sicard bestätigt wurde. Auf die geringe bezw. fehlende Pathogenität des Sclerombacillus machten schon Paltauf und v. Eiselsberg aufmerksam, eine Angabe, die später vielfach bestätigt wurde. Im Gegensatz zu diesen Bakterien, deren letale Wirkung auf eine Septicämie zurückzuführen ist, steht, wie Kruse dies hervorhebt, der Bac. lactis aërogenes, der nur in grösseren Dosen für die gewöhnlichen Versuchsthiere pathogen ist und hauptsächlich durch seine fertig gebildeten giftigen Producte wirkt.

Nach dem Gesagten musste in den eigenen Versuchen vor Allem eine einheitliche Infectionsmethode zur Anwendung kommen. Gewisse Fehlerquellen waren auch bei stets gleicher Versuchsanordnung nicht auszuschalten, so die individuelle Dispositionsverschiedenheit der Thiere und Schwankungen in der Menge des Impfmaterials.

Als Versuchsthiere wurden weisse Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen verwendet. Die ersteren wurden subcutan, die beiden letzteren intraperitoneal inficirt.

Die weissen Mäuse wurden entweder von einem Diener gehalten oder in dem kleinen Apparat nach Kitasato befestigt, die Schwanzwurzelgegend geschoren, mit Lysol gewaschen, die Haut mit einem Scheerenschlag durchtrennt und mittels steriler Oese am Rücken und in den Seiten von ihrer Unterlage gelöst. In die so gebildete Hauttasche wurde 1 Oese der Cultur eingebracht und verrieben, die kurze Hautschnittwunde durch ein oder zwei Knopfnähte verschlossen und mit Jodoformcollodium verklebt. — Meerschweinchen von 300 bis 400 ^{grm} Gewicht wurden auf einem Lautenschläger'schen Operationsbrett aufgespannt, die Bauchdecken desinficirt und in einer Länge von 2 bis 3 ^{cm} mit dem Messer bis auf das Peritoneum durchtrennt. In die mittels einer glühenden Platinöse eröffnete Bauchhöhle wurde 1 Oese der Cultur eingebracht. Darnach Verschluss des Peritoneums durch eine Knopfnaht und fortlaufende Hautmuskelnaht. Jodoformcollodium. — Zur Infection der Kaninchen wurde auf je 400 ^{grm} Körpergewicht derselben 1 Oese Cultur gerechnet. Das Impfmaterial wurde in 2 ^{ccm} physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und mit Stroschein'scher Spritze intraperitoneal injicirt.

Zu sämmtlichen Thierversuchen wurde ein und dieselbe Oese verwendet, welche in ihrer Grösse zwei Normalösen entsprach (4 ^{mg}). Auf diese Weise und durch ausschliessliche Benützung

von Agarculturen sollten zwei Quellen für die Variabilität der Befunde nach Möglichkeit vermieden werden: die wechselnde Keimzahl und die nicht ausschliessliche Einverleibung lebender Bakterien. Denn auch bei Injection gleicher Mengen Bouilloncultur ist die Zahl der eingebrachten Keime eine sehr verschiedene und die gleichzeitige Einverleibung von Toxinen und ausgelaugten Bakterienleibern sehr wahrscheinlich.

Die inficirten Thiere wurden durchschnittlich 10—14 Tage beobachtet. Wenn dieselben eingingen, wurde möglichst bald post mortem die Section in der üblichen Weise vorgenommen, indem von allen Thieren steril Herzblut entnommen und auf schief gelegten Agar ausgestrichen wurde. Bei den intraperitoneal geimpften Thieren wurde ausserdem die Bauchhöhle auf ihren Keimgehalt geprüft, einerseits, um das Eingehen der Thiere nach eventueller Darmverletzung, wie sie bei der Infection von Kaninchen möglich war, auszuschliessen, andererseits, um über den Mechanismus der Infection Aufklärung zu erhalten.

Gerade das letztere Moment muss, um zu den Resultaten der Thierversuche überzugehen, bei der Verwerthung der Befunde zur Differentialdiagnose der Stämme herangezogen werden. In dieser Hinsicht boten sich nämlich folgende Unterschiede dar: während die Stämme F. I bis X, O. I bis X, B. c. m. F. und B. c. Pf. bei allen Thieren, für welche sie pathogen waren, eine Septicämie erzeugten und in dem Herzblut der eingegangenen Thiere in reicher Menge nachzuweisen waren, wirkten alle übrigen Stämme theils nicht, theils nicht regelmässig in dieser Weise letal.

So die Stämme Scl. I bis IV: Von den Meerschweinchen, welche mit diesen Stämmen in der früher geschilderten Weise inficirt wurden, überlebte eines, alle übrigen starben nach kürzerer oder längerer Zeit. Die Bauchhöhle der vier eingegangenen Thiere erwies sich einmal als steril, zweimal als nur mehr ausserordentlich wenig keimhaltig, einmal, und dies bei einem Thier, das am Abend eingegangen war und erst am nächsten Morgen secirt werden konnte, wurden in derselben Staphylokokken gefunden. Das Herzblut war in allen vier Fällen steril. Von den vier mit den genannten Stämmen geimpften Kaninchen starb eines, dessen Peritoneum und Herzblut ebenfalls keimfrei waren.

Diese Befunde beweisen, dass es im Thierkörper zu keiner Vermehrung der eingeführten Bakterien kam. Dieselben gingen vielmehr in der Peritonealhöhle der gesunden Thiere zu Grunde, indem sie Kügelchenform annahmen, wie dies auch gelegentlich der Versuche zur Benutzung des Pfeiffer'schen Phänomens beobachtet werden konnte. Trotzdem erlagen die Thiere der Infection.

Diese Erscheinung kann nur in der Weise erklärt werden, dass die genannten Stämme für die Versuchsthiere wenig infectiös waren. Die

Tabelle IX.

Pathogenität der untersuchten Stämme für Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen.

+ Exitus mit positivem Bacillenbefund im Herzblut. — Exitus mit negativem Bacillenbefund im Herzblut. ± überlebt.

Stamm	F. I	F. II	F. III	F. IV	F. V	F. VI	F. VII	F. VIII	F. IX	F. X	B. c. m. F.	O. I	O. II	O. III	O. IV	O. V	O. VI	O. VII	O. VIII	O. IX
Maus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Meerschweinchen	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±	±	±	+	±	±	+	+
Kaninchen	±	±	±	±	±	±	+	±	±	±	±	?	±	±	+	+	?	±	+	±
Fortl. Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20

Stamm	Scl. I	Scl. II	Scl. III	Scl. IV	B. c. Pf.	A. I	A. II	A. III	A. IV	A. V	A. VI	A. VII	A. VIII	A. IX	A. X	A. XI	A. XII	B. c. s.
Maus	±	±	±	±	+	±	±	—	±	±	±	±	±	±	±	?	—	±
Meerschweinchen	—	—	±	—	+	?	±	±	+	±	—	±	—	—	+	±	±	±
Kaninchen	±	—	±	±	±	—	+	+	±	±	+	±	±	+	+	±	+	±
Fortl. Nr.	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38

natürliche Immunität der Versuchsthiere erschöpfte sich an den eingeführten Bakterien, die vollkommen oder nahezu vollkommen aufgelöst wurden. Durch die Zerstörung der Mikroorganismen schützte sich der Organismus gegen ihre Vermehrung und Propagation. Doch hatte er nicht mehr die Kraft, gegenüber den giftigen Substanzen der Bakterienleiber aufzukommen, welche durch die Auflösung der Bakterien frei wurden.

Die Stämme A. I bis XII verhielten sich verschieden je nach Stamm und Thierart. Kaninchen gegenüber wirkten sie fast ausschliesslich septicämisch. Von den geimpften Mäusen gingen nur zwei und diese mit negativem Bacillenbefund im Herzblut ein. Von den inficirten Meerschweinchen starben fünf; dreimal war das Herzblut steril. In zwei dieser Fälle fanden sich in der Bauchhöhle noch sehr reichlich Keime, in dem dritten Falle fehlt die Angabe. Es kam hier also nicht zu einem Zerfall der Bakterien in der Bauchhöhle, sondern vielmehr zu einer Vermehrung derselben, ohne dass sie in die Gewebe eingewandert wären. Soweit Schlüsse aus den wenigen Befunden möglich sind, handelte es sich vielleicht hier um einen Gifttod der Versuchsthiere, welcher durch die beim intraperitonealen Wachsthum der Bakterien gebildeten Toxine herbeigeführt wurde. Durch den wechselnden Infectionsmechanismus liessen sich die Stämme A. I bis XII von allen übrigen abtrennen.

Die Pathogenität als solche ist aus der in Tabelle IX (S. 50) gegebenen Uebersicht zu erkennen.

Nach den an verschiedenen Thieren angestellten Versuchen liessen sich die Stämme folgendermaassen gruppiren:

Versuche an weissen Mäusen (0·004 grm subcutan):

I. pathogen: 1. septicämisch: F. I bis X, B. c. m. F., O. I bis X, B. c. Pf.;
2. nicht septicämisch (Toxine?): A. III, XII;

II. nicht pathogen: Scl. I bis IV, A. I, II, IV bis X, B. c. s.

Versuche an Meerschweinchen (0·004 grm intraperitoneal):

I. pathogen: 1. septicämisch: F. I bis X, O. V, VIII, IX, A. IV, X (die beiden letzteren vielleicht toxisch?);
2. nicht septicämisch: α. (Toxine?) A. VI, VIII, IX, β. (giftige Proteïne?) Scl. I, II, IV;

II. nicht pathogen: B. c. m. F., O. I bis IV, VI, VII, Scl. III, A. II, III, V, VII, XI, XII, B. c. s.

Versuche an Kaninchen (0·004 grm auf je 400 grm Körpergewicht intraperitoneal):

I. pathogen: 1. septicämisch: F. VII, O. IV, V, VIII, A. II, III, VI, IX, X, XII;
2. nicht septicämisch: Scl. II (giftige Proteïne?) A. I (?);

II. nicht pathogen: F. I bis VI, VIII bis X, B. c. m. F., O. II. III, VIII, IX, Scl. I, III, IV, A. IV, V, VII, VIII, XI, B. c. s.

Bevor eine Eintheilung der Kapselbacillengruppe auf Grund der besprochenen Beobachtungen versucht werden soll, seien die Charakteristica der ganzen Gruppe und der einzelnen Species, wie sie in der Litteratur beschrieben und in den eigenen Untersuchungen gefunden wurden, verglichen. —

Die Kapselbildung im Thierkörper oder Menschen, die Unbeweglichkeit, die Nichtverflüssigung der Gelatine und das Wachsthum in üppigen schleimigen Auflagerungen auf Agar sind jene Merkmale, welche allen Vertretern dieser Gruppe zukommen. Unbestimmt ist das Verhalten zur Gram'schen Färbung, das Wachsthum im Gelatinestich, die Indolbildung, die Thierpathogenität (namentlich Mäusen gegenüber), Momente, auf welche von verschiedenen Autoren bei Abgrenzung dieser Gruppe Gewicht gelegt wurde. Selbst der Befund der Kapsel, welcher der Gruppe den Namen gab, kann mit Rücksicht auf kapselähnliche Bildungen bei entfernt stehenden Mikroorganismen (Johne: Milzbrand, Kruse: B. coli, R. Bunge) und der bisweilen schweren Darstellbarkeit der Kapsel nicht mehr stichhaltig genannt werden.

Bei der Trennung der „Gruppe des Bac. aërogenes und Rhinosclerombacillus“ von der Gruppe des B. coli legt Kruse das Hauptgewicht auf die Unbeweglichkeit der ersteren. Nach den eigenen Untersuchungen wird dieses Moment durch die Farbe der Agar- und Kartoffelcultur (Ury) unterstützt.

Es kamen ferner drei Stämme zur Beobachtung, welche bei der Reinzüchtung auf Agarplatten als Aërogenesstämme angesprochen wurden. Sie unterschieden sich aber durch positive Indolreaction, geringe Säurebildung in Lackmusmolke und mehr bräunliche Farbe der Kartoffelcultur von den übrigen Aërogenesstämmen. Zweifellos handelte es sich hier um Beispiele jener Art, die Kruse's Schüler, Wilde, veranlasste, den Typus des B. coli immobilis aufzustellen. Einer dieser drei Stämme (A. I), der aus Säuglingsfäces isolirt worden war, wurde durch ein Immunserum eines anderen Stammes der gleichen Herkunft agglutinirt. Controlversuche über die Einwirkung desselben Serums auf Colistämme wurden nicht angestellt. Auch wurden die Grenzwerthe der Agglutination für die ein-

zelnen Stämme nicht bestimmt. Es kann deshalb das Verhalten dieses Stammes zur Aërogenes- und Coligruppe nicht mit Sicherheit bestimmt werden. Doch spricht der positive Ausfall der Agglutination dafür, dass es sich um eine zur Coligruppe überführende Art handelte, welche mit dem Aërogenes innig verwandt ist.

Die Identität des letzteren mit dem Pneumobacillus wurde von Staart de la Faille, Denys und Martin, Fricke, Grimbert und Legros u. A. behauptet. Die Charaktere, welche nach den letztgenannten die Vereinigung der beiden Mikroorganismen in eine Gruppe erlauben, sind die folgenden: 1. die Unbeweglichkeit, 2. die Anwesenheit der Kapsel im Blute geimpfter Thiere, 3. die Nichtverflüssigung der Gelatine, 4. die fehlende Indolproduction, 5. die energische Wirkung auf Kohlenhydrate unter Bildung von Aethylalkohol, Essigsäure und, je nach der Natur des Zuckers, von Milch- oder Bernsteinsäure oder auch einem Gemisch von beiden. Denys und Martin glaubten aus ihren Befunden schliessen zu können, dass der Pneumobacillus nur ein Aërogenes von geringerer Vitalität sei. Sie stützen sich hierbei auf das raschere Wachsthum des Aërogenes auf Gelatine und Agar, auf das schon besprochene Verhalten der Milchcultur und die gleichartige Thierpathogenität (Kaninchen, Meerschweinchen, Hunde). Fricke untersuchte wohl einen Aërogenesstamm, acceptirte aber die Annahme von Denys und Martin.

Nach den eigenen Untersuchungen erscheint eine Abtrennung des B. lactis aërogenes von dem B. pneumoniae berechtigt und zwar auf Grund der folgenden Momente: mikroskopisches Bild der Colonieen auf der Agarplatte, Farbe des Rasens auf schiefgelegtem Agar nach mehrtägigem Wachsthum, Gerinnung der Milch, Säurebildung in Lackmusmolke, Intensität der Gasbildung bei Vergährung von Trauben, Milch und Rohrzucker. Hierzu kommt unterstützend (nicht constant) die Farbe der Kartoffelcultur, die Säurebildung in Milch- und Rohrzucker, bisweilen die Gelatinestichcultur. Wenn auch zugegeben werden muss, dass die eigenen Untersuchungen zu abschliessenden Schlüssen über Artunterschiede innerhalb der als Aërogenes aufgefassten Stämme, namentlich was die Identität der aus Cystitisharn gezüchteten mit solchen anderen Fundortes betrifft, nicht hinreichen, so scheint nach denselben eine weitere Differenzirung nicht geboten zu sein. Wenn auch die in Säuglingsfäces gefundenen Stämme bei Immunisirung Agglutinine erzeugten, während dies bei den Stämmen anderer Herkunft nicht der Fall war, verhielten sich alle Stämme doch im Uebrigen identisch, um von den drei indolbildenden abzusehen.

Von Löwenberg, Baurowicz, Marano wurde die Verschiedenheit des Ozaena- vom Friedländer'schen Pneumoniebacillus behauptet. Ihnen stehen die Untersuchungen von Berliner, Fricke, Hajek, Hebert, Thost und Anderen gegenüber, welche die genannten Mikroorganismen identificirten.

Für Löwenberg waren gewisse Unterschiede im Aussehen der Agarculturen (Randbeschaffenheit, Farbe, Consistenz), die Milchculturen (keine Gerinnung beim Ozaenabacillus) und in der Entwickelung von Trimethylamingeruch maassgebend, Unterschiede, welche nicht als stichhaltig angesehen werden können.

Der vermittelnde Standpunkt Abel's, dem das Verdienst gebührt, zuerst die Kapselbacillen aus Ozaenasecret reingezüchtet zu haben, muss hervorgehoben werden. Obwohl Abel die scharf ausgesprochene Ansicht vertritt, dass die Ozaena durch die gleichnamigen Bacillen verursacht werde und in die Reihe der Infectionskrankheiten aufzunehmen sei, muss er doch zugeben, dass die von ihm gelegentlich seiner 1. Mittheilung constatirten Differenzen dieser Bacillen und des Friedländer'schen Pneumoniebacillus zum Theil nicht constante sind, ja dass es sogar schwer ist, diese Differenzirung aufrecht zu erhalten.

Die aus neun Ozaenafällen gezüchteten Mikroorganismen waren zum kleineren Theil mit den an anderer Stelle gefundenen, als Friedländer'sche Pneumobacillen aufgefassten Kapselbakterien vollkommen identisch, zum Theil nur durch die fehlende Pathogenität für Meerschweinchen unterschieden. Alle anderen in der Litteratur angegebenen Unterscheidungsmerkmale erwiesen sich als inconstant.

Darnach scheint es berechtigt, die „Ozaenabacillen“ mit dem Bac. pneumoniae Friedländer's zu identificiren und zwei Varietäten zu unterscheiden: eine für Meerschweinchen nicht pathogene, welche — wenigstens in den eigenen Beobachtungen — ausschliesslich im Ozaenasecret, und eine pathogene, die nur selten an dieser Stelle, häufig bei den verschiedensten Krankheitsprocessen gefunden wurde.

Zur Stellung des Sclerom- zum Pneumobacillus hatten schon Paltauf und v. Eiselsberg gelegentlich ihrer 1. Mittheilung über die Reinzüchtung jenes Mikroorganismus gesagt, dass sie nicht im Stande gewesen waren, stricte morphologische oder biologische Unterscheidungsmerkmale aufzufinden. Das verschiedene Verhalten bezüglich der Virulenz konnte in Analogie eines solchen Verhaltens anderer Bakterien auch nur als Folge veränderter Wachsthums- und Ernährungsverhältnisse und beide Bakterienformen als Varietäten betrachtet werden. Auf Grund weiterer Unter-

suchungen konnte Paltauf später in entschiedener Weise für die Differenzirung des Sclerom- vom Pneumobacillus und dessen ätiologische Bedeutung eintreten, wobei ausser der verminderten Virulenz das verminderte Gährungsvermögen in Zuckerlösungen, die grössere Empfindlichkeit gegen Säure, endlich das Verhalten in der Milch und in alten Gelatineculturen maassgebend waren. Gleichzeitig und in der Folge hatte Paltauf zu wiederholten Malen Gelegenheit, die Unrichtigkeit anderer variabler Differenzirungsmomente nachzuweisen und Angriffe auf die Specifität und ätiologische Rolle des Sclerombacillus abzuwehren. Es seien an dieser Stelle zwei Arbeiten de Simonis erwähnt, welcher sich in jüngster Zeit mit der Kapselbacillengruppe beschäftigte. In der ersten Arbeit streitet de Simoni dem Sclerombacillus wegen seines Vorkommens in der gesunden Nasenhöhle jede ätiologische Bedeutung ab; in der zweiten kommt er zu folgenden Schlüssen:

1. Unter dem Namen Mucosusbacillen der Ozaena sind Varietäten beschrieben worden, welche alle zu ein und derselben Art gehören.

2. Alle diese Varietäten lassen sich in drei Hauptgruppen zusammenfassen, zwischen denen Uebergangsformen vorkommen.

3. Der Hauptstamm aller dieser ist der Friedländer'sche Pneumobacillus, der gewöhnliche Gast der Schleimhaut der Nasen- und Rachenhöhle.

4. Durch die Einwirkung physikalischer Agentien, z. B. von Wärme, kann man eine Varietät in eine andere überführen, so dass Mikroorganismen, welche ganz verschieden von einander zu sein schienen, in Bezug auf die Entwickelungsweise in künstlichen Nährböden identisch werden.

5. Der Polymorphismus der genannten Bacillen ist abhängig von vielerlei Factoren, wobei die besonderen biochemischen Bedingungen der pathologischen Nasenschleimhaut, die Anpassung an diese und die Vergesellschaftung mit verschiedenen Bakterienarten nicht ausgeschlossen sind.

Ohne auf die von de Simoni in der vierten und fünften Schlussfolgerung ausgesprochene Ansicht einzugehen, muss nach den eigenen Beobachtungen die Differenzirung eines Sclerombacillus vom „Pneumo- und Ozaenabacillus" als möglich und berechtigt bezeichnet werden. Maassgebend sind hierbei die folgenden Momente: Reaction der Lackmusmolke, Gasbildung bei Wachsthum in Zuckerlösungen und die Thierpathogenität.

Von den zahlreichen anderen in der Litteratur beschriebenen Kapselbacillen, über welche Fricke und W. Müller tabellarische Uebersichten geben, wurden nur der Bac. mucosus capsulatus Fasching, der Bac. capsulatus Pfeiffer und der Bac. capsulatus septicus Bordoni Uffreduzzi zum Vergleich herangezogen.

Die Stellung des letzteren, von dessen Cultur Kruse mit Recht sagt, dass sie sich kaum von der eines B. coli unterschied, kann nicht bestimmt werden. Der Fasching'sche Bacillus nähert sich in seinem Verhalten in Lackmusmolke und Zuckerlösungen dem Sclerombacillus, ist aber von ihm durch die Thierpathogenität unterschieden. Ob die ausserordentlich zähe Beschaffenheit eine constante Eigenschaft ist, ist fraglich (de Simoni's B. mucosus tenax). Das Kapselbacterium von Pfeiffer, zur Aërogenesgruppe gehörig, vermittelt den Uebergang von dieser zur Friedländergruppe.

Ohne einer Aufstellung und Einschaltung neuer Arten vorzugreifen, ergiebt sich für die untersuchten unbeweglichen, Gelatine nicht verflüssigenden pigmentfreien Kapselbakterien folgende Eintheilung:

Typus I: Bac. mucosus capsulatus:

Species 1: Friedländer, Abel-Löwenberg: Varietät α und β.
Species 2: Fasching.
Species 3: v. Frisch, Paltauf-v. Eiselsberg (Sclerombacillus).

Typus II: Bacillus aërogenes.

Species 1: Pfeiffer.
Species 2: Varietät α: Escherich; Varietät β: (Bac. coli immol. Wilde).

Es sei mir erlaubt, diese Stelle zu benutzen, um Hrn. Professor R. Paltauf, dessen Unterstützung mir nicht nur gelegentlich dieser Arbeit und der Zeit, die ich im staatlichen serotherapeutischen Institute zubringen durfte, sondern auch über diese Zeit hinaus, in so reichem Maasse zu Theil wurde, meinen ergebensten Dank zu sagen.

Hr. Dr. Rud. Kraus, Assistent am Institute, stand mir bei den obigen Untersuchungen in steter, nie ermüdender, freundschaftlicher Liebenswürdigkeit mit Rath und That bei: auch ihm danke ich herzlichst und bestens.

Lfd. Nr.	Protokoll-Bezeichng.	Fundort, Datum der Reinzüchtung	Wachsthum auf: Agar	Gelatine	Bouillon	Kartoffel
1	F. I	Laboratoriumsstamm unbekannter Herkunft; derselbe wurde durch einige Jahre fortgezüchtet	Platte: kugelig erhabene, kreisförmige, scharf begrenzte, schmutzig grauweisse Colonieen, die glänzend, zäh-fadenziehend, von schleimigem Aussehen sind. Durchmesser bis zu 0·5 cm. Mikrosk.: central braun, peripher grauschwarz, Rand vollkommen hell, zart, aber deutlich granulirt, die Begrenzung scharf; keine radiäre Streifung. Auf einer anderen Platte sind die Colonieen weniger erhaben und eigen gefärbt, einzelne derselben mit ausgezeichneter radiärer Streifung versehen. Stich: graue, glänzende, erhabene Oberflächenauflagerung; der Stich ein graues Band mit sehr zahlreichen plumpen Fortsätzen und Zapfen versehen, welche in die Agarsäule eindringen. Gasbildung. Strich: grauweisser, glänzender, erhabener Strich, dessen Rand hell und scharf ist, eine pallisadenförmige Strichelung erkennen lässt, wenig abfliessend	Platte: flach erhabene, kreisförm., grau-weisse Col. mit radiärer Streifung, welche mikrosk. die Körnung der braungrauen scharf begrenzten Col. verdeckt; Stich: Nagelcultur; keine Bräunung	nach 24 Stdn. ist die Bouillon dicht getrübt, an d. Wand ein 1 bis 2 mm breiter zart. milchweisser Ring, welcher am 4. Tage d. Oberfl. d. Bouillon bis auf einen kleinen centralen Kreis als grauweisses schleimiges u. schwer bewegl. Häutchen bedeckt. Der Wandbeschlag dann auch breit. Beim Schütteln löst sich derselbe nur schwer u. dann in Form e. breit. Bandes, während das auf der Bouillon schwimmende Häutch. sich in einem fädig. Knäuel zu Boden senkt. Kein Bodensatz	nach 24 Stdn.: farblose erhabene, glänzende Auflagerung mit aufgeworfenem Rand. nach 2 × 24 Stdn.: Rasen üppiger, gelb. nach 3 × 24 Stdn.: der Rasen hoch erhaben m. buckligem Rand. am 8. Tage Gasbildung.
2	F. II	Pericholecystischer Abscess. 1. III. 1899	Platte: stecknadelkopfgrosse, bis 2 mm im Durchmesser haltende, kugelig erhabene, fettig glänzende, durchscheinende, schleimig-fadenziehende Col. von wenig grauweisser Eigenfarbe. Mikrosk.: rehbraun, nach d. Peripherie hin abblassend, d. Rand hell u. zart granulirt. Jede Col. erscheint von 2 kreisförmigen u. daher parallel verlaufenden Reihen hintereinander gelagerter Stäbchen scharf begrenzt. Stich: glänzende schleimige, grauweisse, üppige Auflagerung. Gasbildung. Strich: hoch erhabener, intensiv spiegelnder, üppiger Strich; der Rand hell, glatt	Platte: kugelig erhabene, sehr wenig grauweiss gefärbte spiegelnde Colonie mit durchsichtigem Rand u. ausserordentl. Glanz; mikrosk. graubraun mit sehr scharfer Zeichnung u. scharfer Begrenzung Stich: Nagelcultur. Bräunung im oberen Theile	wie F. I; die diffuse Trübung der Bouillon nach 24 Stdn. gering	der Rand nicht aufgeworfen, der Rasen gleichmässig erhaben, sonst wie F. I; keine Gasbildung.

Tabelle X. (Fortsetzung.)

Lfde. Nr.	Protokoll-Bezeichng.	Fundort, Datum der Reinzüchtung	Wachsthum auf: Agar	Gelatine	Bouillon	Kartoffel
3	F. III	Duodenalinhalt bei Phlegmone d. Duodenums mit folgender diffuser eitrig. Peritonitis. Magencarcinom 16. IV. 1899	Platte: grosse, kugelig erhabene Colonie von gelbweisser Farbe u. heller peripherer Zone. Mikrosk. sind die Colonieen graubraun, der Rand ebenso, nur heller, deutlich granulirt, die Begrenzung sehr scharf. Stich: oberflächliche grauweisse bis graugelbe üppige Auflagerung mit schillernder Oberfläche. Im Stich wie F. I. Strich: wie F. I, namentlich was die Zeichnung des Randes betrifft	Platte: flacherhabene grauw. Col., von denen die grösseren makrosk. eine sternförm. Zeichn. erkennen lassen. Der Rand hell, spiegelnd. Mikrosk.: die Col. sind graubraun, scharf begrenzt, scharf granul. Bei d. grösser. wird d. Körnung durch jene dichte, feine radiäre Faserg., wel. bis an d. Periph. reicht, verdeckt. Stich: Nagelcultur; keine Bräunung	nach 24 Stdn. wie F. I nach 2 × 24 Stdn. Wandbeschlag und Häutchen wie bei F. I, doch lieg. auch am Boden der Eprouvette grauw., sehr dicke, flockige Massen, welche als herabgesunkene Theile der Oberflächenhaut zu erkennen sind	wie F. I, keine Gasbildung.
4	F. IV	Pneumonie	Platte: Colonie nicht so stark erhaben wie bei den vorhergehenden Stämmen F. I bis III, mit mehr grauweisser Eigenfarbe. Mikrosk.: graubraune Colonie mit radiärer Streifung, granulirt u. hellem, scharf begrenztem Rand; nach 2 × 24 Stdn. ist die radiäre Streifung auch makrosk. sichtbar. Stich: oberflächlich breit ausgedehnte spiegelnde Auflagerung, die im centralen Theile graugelb, an der Peripherie grau ist. Der Stich mit zahlreichen blassgrauen Zäpfchen versehen. Strich: grauweisser, spiegelnder Rasen; die Mitte desselben abfliessend, der Rand daher höher, gestrichelt	Platte: flache, opak grauw., scharf kreisförmige Col. von intensivem Glanz u. hellem Rand. Mikrosk. erscheinen d. Col. gleichmässig kaffeebraun, sehr scharf begrenzt. Die körnige Zeichnung bei A-Vergrösserung äusserst fein, erst bei Objectiv C deutlich. Stich: Nagelcultur; keine Bräunung	nach 24 u. 2 × 24 Stdn. völlig identisch mit F. II	wie F. I, am 5. Tage Gasbildung.

5	F. V	Pneumonie	[illegible] glänzende Col., ca. 3 bis 4 mm im Durchmesser, von sehr geringer schleimiger Eigenfarbe. Rand wasserhell durchsichtig. Wo die Col. nahe stehen, confluiren sie. Mikrosk. sind die Col. graubraun, scharf begrenzt, der Rand hell, fein granulirt; einzelne Col. zeigen radiäre Streifung angedeutet. Strich: sehr hoher Rasen, dessen Rand die für F. I beschriebene Zeichnung zeigt	kreisförm. Col. m. hell. Rand, spieg. Mikrosk.: graubr., scharf kreisf. begrenzte Col. m. grob. radiärer Faserung. Das Centrum undurchs., d. Rand hell, sehr scharf und deutlich granulirt Stich: Nagelcultur; keine Bräunung	nach 2 × 24 Stdn. ist die ganze Oberfläche von einem schleimigen grauweissen, mit dem Wandbeschlag zusammenhängend. Häutch. bedeckt, welches sich beim Schütteln, ohne sich zu theilen, loslöst und zu Boden sinkt	Gasbildung.
6	F. VI	acute Bronchitis 26. XI. 1899 (neben Diplokokken)	Platte: (nach 2 × 24 Stdn.) grosse 1 cm im Durchmesser haltende erhabene, scharf begrenzte, vielfach confluirende, intensiv glänzende, grauweisse schleimige Colonie mit hellem Rand, zäh, aber nicht fadenziehend. Mikrosk. erscheinen die Colonieen central dunkelbraun und homogen, gegen die Peripherie abblassend, daselbst graubraun, äusserst dicht und zart granulirt. D. Rand vollkommen scharf v. einer Reihe hint. einander gelagerter Stäbch. gebildet. Stich: oberfl. üppige runde, erhabene und glänzende Auflagerung, die nach 2 × 24 Stdn. über die ganze Oberfl. ausgebreitet ist. Gutes Wachsthum im Stich, der unscharf begrenzt ist. Strich: erhabener, grauweisser, glänzender, im centralen Theile abfliessender, sehr scharf begrenzter üppiger Rasen	Platte: flachkugelig erhabene, grauweisse, spiegelnde, scharf kreisförmig begrenzte Col. Mikrosk. lassen d. hellbraunen Colonieen bei schwacher Vergr. undeutl., b. starker Vergr. deutl. Körnung erkenn. Zahlr. Col. sind radiär gefasert. Stich: Nagelcultur. Stecknadelkopfgrosse, kugelige, weisse. glänzende oberfl. Auflager. Der Stich aus kleinsten u. grösseren ellipsoïden Knötchen zusammengesetzt	wie F. I	nach 24 Stdn. farbloser etw. erhabener Rasen mit unregelmässigem Rand; nach 2 × 24 Stdn.: üppiger erhabener farbloser Rasen mit trockenem Glanz; nach 4 × 24 Stdn.: der Rasen ist hellgelb, die Kartoffel grau verfärbt; nach 5 × 24 Stdn.: reich überfliessender Rasen; derselbe dementsprechend flacher, intensiv glänzend, beg. Gasbildung;
7	F. VIII	Pneumonie 27. XI. 1899	Platte: 1 bis 6 mm messende kreisrunde, erhabene Col., namentl. an den grösseren ist eine breite, vollkommen farblose Randzone zu erkennen. Entsprechend der centralen erhabensten Partie eine durchscheinende schmutzig-weisse Eigenfarbe. Mikrosk.: central dunkelbraune, peripher blassbraune granulirte scharf begrenzte Colonie. Stich: oberflächlich kugelig erhabene, glänzende grauweisse Colonie. Wachsthum im Stich sehr gut. Strich wie F. VI	Platte: grauweisse, flach erhabene Col. mit hellem Rand u. intensivem Glanz. Mikrosk.: gleichm. graubraun, sehr scharf granulirt. Stich: Nagelcultur. Die oberflächliche Auflagerung etwas grösser als F. VI, auch im Stich das Wachsthum üppiger	nach 24 Stdn. der Wandbeschlag sehr gering. Später Wachsthum analog wie bei F. I	nach 24 Stdn.: farbloser etw. erhabener Rasen m. buckligem Rand; nach 2 × 24 Stdn.: hoher, trockener, aber glänzender, hellgelber Rasen nach 4 × 24 Stdn.: ungeheure Gasbildung; nach 5 × 24 Stdn.: der schmutzig-hellgelbe Rasen über die ganze Kartoffel ausgebreitet und überfliessend. Gasbildung gleich intensiv.

Tabelle X. (Fortsetzung.)

Lfde. Nr.	Protokoll-Bezeichng.	Fundort, Datum der Reinzüchtung	Wachsthum auf: Agar	Gelatine	Bouillon	Kartoffel
8	F. VIII	Pleuraempyem 28. XI. 1899 Durch Probepunction mit steriler Spritze wurde eitriges Exsudat, das nach Schwefelwasserstoff roch, aspirirt (I. medicin. Klinik) Reincultur	Platte: flachkugelig erhabene, perlgraue Colonie mit starkem Glanz, im durchfallenden Licht fast durchscheinend. Die Randzone sehr hell. Mikrosk.: central graubraun, dunkel, nach der Peripherie heller werdend, bald eine feine deutliche Granulirung erkennen lassend; der Rand blassgrau, ausserordentl. deutl. gekörnt, sehr scharf begrenzt. Radiäre Faserung. Stich: die centrale Senkung der Agaroberfläche vollkommen ausfüllende und ebnende, wenig grauweiss gefärbte, spiegelnde Auflagerung. Wachsthum im Stich gut und gleichmässig, mit feinzackiger Begrenzung. Strich: grauweisser, hoch erhabener spiegelnder scharf begrenzter Rasen. Consistenz zäh, nicht fadenziehend	Platte: flache, scharf kreisförmige grauweisse Col. Mikrosk.: dunkelbraune Colonie, deren Rand sehr deutlich granulirt u. scharf ist; einzelne zeigen radiäre Streifung. Stich wie F. VI	wie F. I	nach 24 Stdn.: erhabener, hellgelber Rasen mit trockenem Glanz, auf den Strich begrenzt; Rand steil, leicht höckerig, unregelmässig wellig; nach 2 × 24 Stdn.: die Kartoffel hellgrau verfärbt, der Rasen erhaben, schmutzig-gelb. Im weiteren Verlauf kommt es zu intensiver Gasbildung.
9	F. IX	Pneumonie 4. I. 1900 Reincultur	Platte: ca. 3 mm im Durchm. messende grauweisse kugelig erhabene Colonie mit wasserhellem Rand, glänzend. Mikrosk.: central undurchsichtig graubraun, periph. dunkelgrau, nach aussen eine deutlicher werdende sehr scharfe Körnung erkennen lassend. Begrenzung scharf. Stich: hoch erhabene, intensiv glänzende, wenig grauweiss gefärbte oberflächliche Auflagerung von ausgebuchtet kreisförm. Gestalt und scharfer Begrenzung. Strich: sehr hoher, glattrandiger, schleimiger, grauweisser, spiegelnder Rasen, nur ganz wenig fadenziehend	Platte: flachkugelig erhabene grauweisse Colonie mit breitem hell. Rand, spiegelnd. Mikrosk.: graubraun, sehr deutl. granulirt, scharf begrenzt. Stich wie F. VI	wie F. VII	nach 24 Std.: Rasen weissgelb aus klein. stecknadelkopfgrossen kugelig. Col. zusammengesetzt, glänz., nicht feucht; nach 2 × 24 Stdn.: üpp., runzl., hellgelber Ras., sehr wen. feucht. Kart. grau verfärbt; nach 3 × 24 Stdn.: beg. Gasbildg. Die Farbe d. Ras. mehr graug., d. Obfl. desselb. runzl. u. höck., trock. glänz., nicht überfliessend, vom Nährboden scharf abgesetzt; nach 5 × 24 Stdn.: intensive Gasbildung. Rasen unverändert trocken; nach 7 × 24 Stdn.: Rasen weissg., feucht, glänz., nach unten überfliessend; keine Gasbildung mehr.

10	F. X	Laboratoriumsstamm des Wiener hygienischen Inst.; im Februar 1900 von Hrn. Assistent Dr. Grassberger erhalten	Platte: halbkugelige Colonie von hellgrauer Farbe. Die Peripherie als wasserheller Ring um den grauen centralen Kern. Mikrosk.: grauschwarz, nur gegen die Peripherie zu durchsichtig, deutlich gekörnt, scharf begrenzt; einzelne Colonieen radiär gefasert. Stich: oberflächlich flache, grauweisse, spiegelnde Auflagerung mit fettig. Glanz, welche nach 2 × 24 Stdn. die Wand der Eprouvette erreicht hat. Wachsthum im ganzen Stich bandförmig, feinkörnig. Strich: spiegelnder, grauweisser, stark abfliessender Rasen	Stich: Nagelcultur. Der Kopf flachkugelig erhaben, glänzend, porzellanähnlich. Im Stich wie F. VI, doch die einzeln. Knötchen grösser	wie F. I	nach 24 Stdn.: leicht erhabener, trockener Rasen; der Rand etwas höher, festonartig, Farbe dunkelgelb; nach 2 × 24 Stdn.: Rand buckelig aufgeworfen; nach 3 × 24 Stdn.: hellgelb, trocken, sonst unverändert; nach 7 × 24 Stdn. kein Gas.
11	B. c. m. F.	aus Kral's Laboratorium; am 31. VII. 99 erhalten. Derselbe stammt nach Kral's Ang. v. Prof. Klemensiewicz in Graz. Der Bacillus capsulatus mucosus wurde von Fasching im Winter 89/90 in Graz gelegentlich einer daselbst herrschenden Influenzaepidemie neb. Staphylokokken aus Nasensecret reingezüchtet	Platte: flach erhabene, glänzende Colon. von wenig Eigenfarbe. Mikrosk.: blassbraune gekörnte Col. mit scharfem, hellem Rand; bisweilen findet sich eine radiäre Streifung. Stich: um den Einstich runde, stark erhabene, glänzende Auflagerung von grauweisser Farbe; gleichmässig gekörntes Wachsthum in der ganzen Länge. Gasbildung. Strich: erhabener, scharf begrenzter, wachsig glänzender, abfliessender grauweisser Belag. Condenswasser weiss, zäh, unbeweglich. Der Rand des Belages pallisadenförmig gestreift. Consistenz ausserordentlich zäh u. sehr stark fadenziehend	Platte: flach erhabene, zart grauweiss gefärbte, leicht irisirende, kreisförmige, spiegelnde Colonie. Mikrosk.: hellgelb, undeutlich gekörnt und von einem unregelmässigen, kleinwellig. Contour begrenzt. Stich: Nagelcultur	nach 24 Stdn.: diffus getrübt, entsprechend der Oberfl. schleimig. Beschlag an der Wand der Eprouvette; nach 4 × 24 Stdn. ist der Reif auf die Wand der Eprouvette beschränkt u. vertheilt sich bei Schütteln fädig vorzugsweise in d. ober. Partieen der Bouillon. Kein Häutchen. Die Bouillon schwer beweg|., dickschleimig, von zäher Consistenz	nach 24 Stdn.: mässig gutes Wachsthum; flache, ein wenig gelbliche Auflagerung mit geringem Glanz; Kartoffel grau verfärbt; nach 2 × 24 Stdn.: erhabener, gelber, scharf begrenzter Rasen mit aufgeworfenem Rand. Gasbildung; nach 5 × 24 Stdn.: Rasen gar nicht abfliessend.

Tabelle X. (Fortsetzung.)

Lfde. Nr.	Protokoll-Bezeichng.	Fundort, Datum der Reinzüchtung	Wachsthum auf: Agar	Gelatine	Bouillon	Kartoffel
12	O. I	Ozaena. 10. VIII. 1899	Platte: spiegelnde, erhabene Colonie von durchscheinend grauweisser Farbe. Mikrosk.: central dunkelbraun, homogen; der Rand hell, scharf gekörnt. Begrenzung fein gezackt. Stich: oberflächlich erhabene, glänzende, wenig grauweisse Auflagerung; fadenförmiges Wachsthum im Stich. Strich: üppiger, stark erhabener, scharf begrenzter, glänzender, abfliessender Belag von schmutzig-hellgrauer Farbe u. fadenziehender Consitenz	Platte: flache u. flach erhabene, opak weissgraue, porzellanähnl. Col. mit hellem Rand, spiegelnd. Mikrosk.: braungraue Col. mit grober Körnung in der hellgrauen, peripheren Zone; scharf begrenzt; Stich: Nagelcultur; geringgrad. Bräunung an der Oberfläche	wie F. I. Das oberfl. Häutchen sowie der Wandbeschlag lösen sich leicht	nach 24 Stdn.: wie F. I, doch stärker erhaben; nach 2 × 24 Stdn.: hoher, üppiger, weissgelber Rasen; intensive Gasbildung; stark abfliessend.
13	O. II	Ozaena. am 12. VIII. 1899 von Hrn. Doc. R. Abel aus dem Hamburger hygienischen Inst. erhalten, mit d. Bezeichng.: „Ozaena Frau E.“ Der Stamm war 6 Wochen vor Empfang von Hrn. Doc. Abel reingezücht. word.	Platte: 2 bis 5 mm im Durchm. messende, leicht erhabene, glänzende Colonie von weisser bis weissgelber Farbe. Der Rand hell. Mikrosk. erscheinen die Colon. im Centrum dunkelbraun, undeutl., peripher deutlich granulirt. Die Begrenzung scharf. Stich: leicht erhabene, grauweisse, glänzende Auflagerung, gleichmässiges Wachsthum im Stich. Strich: erhabener, scharf begrenzter, grauweisser, glänzender, stark fadenziehender Rasen	Platte: flache, blassgraue, aber glänzende u. schleim. aussehende Col., welche mikrosk. schmutzig-gelb u. undeutl. gekörnt erschein. Die Begrenzung scharf oder unregelmässig kleinwellig; Stich: Nagelcultur. Bräunung der Gelatine im oberen Theile	wie O. I	nach 24 Stdn.: spärlicher, flacher, glänzender Rasen ohne jede Eigenfarbe; nach 2 × 24 Stdn.: erhabener, glänz., schmutzig-gelber Belag; nach 3 × 24 Stdn.: Gasbildung; nach 5 × 24 Stdn.: stark abfliessend.
14	O. III	Ozaena. am 12. VIII. 1899 von Hrn. Doc. R. Abel aus dem Ham-	Platte: hohe, kugelig erhabene, glänzende Colon., welche geringe grauweisse Eigenfarbe zeigen. Peripherie wasserhell, gegenüber d. centralen Theile ohne Eigenfarbe. Mikrosk. sind die Colon. homogen		nach 24 Stdn.: diffus, sehr dicht getrübt, geringer Wandbeschlag, der sich nach 4 Tgn. kaum vermehrt hat.	wie O. II; schon nach 2 × 24 Stunden abfliessend. Gasbildung

		burger hygienischen Inst. erhalten, bezeichnet: 99. 1061; von Hrn. Doc. Abel ca. 4 Wochen vor dem Empfang reingezüchtet	dunkelgraubraun im Centrum, während die Randzone blasser u. stark gekörnt ist. Die Begrenzung ist scharf. Stich: hoch erhabene, vollkommen kreisrunde, glänzende, halbkugelige oberflächliche Auflagerung von sehr geringer grauweisser Eigenfarbe. Strich: wenig fadenziehender, erhabener, im unteren Theile des schief gelegten Agars über d. ganze Fläche ausgestreckter, scharf begrenzter, grauweisser, glänzender Rasen. Condenswasser schmutzig-weiss, nicht ausfliessend	Stich: Nagelcultur. Bräunung in d. oberen Hälfte der Gelatinesäule. In der Tiefe des Stiches Wachsthum in kleinsten grauweissen Körnchen	Auf der Oberfläche einzelne schleimige Flocken schwimmend, welche sich beim Schütteln theilweise fädig vertheilen, theilweise zu Boden sinken. Bodensatz wechselnd	unsicher (nach 9 Tagen).
15	O. IV	Ozaena. 13. VIII. 1899	Platte: grosse, flache bis flach erhabene, durchscheinende Col. v. wenig schmutzigweisser Eigenfarbe u. spiegelndem Glanz. Mikrosk.: central dunkelbraune, peripher hellbraune Colon. Die Randzone deutlich granulirt, Begrenzung scharf. Stich: üppige kreisrunde, hoch erhabene, glänzende, oberflächliche Auflagerung, die vollkommen scharfe Begrenzung u. wenig grauweisse Eigenfarbe zeigt. Strich: erhabener, spiegelnder, abfliessender Rasen	Platte: halbkugelig erhabene, opak grauw., glänz., tropfenförmige Col. v. starkem Glanz. Mikrosk.: graubr. Col. mit sehr scharfer Begrenzung, der Rand deutlich gekörnt, sonst homogen. Stich wie O. III	wie F. I	wie O. II; nach 2 × 24 Stdn.: Gasbildung. Rasen stark abfliessend.
16	O. V	Ozaena. 14. XII. 1899	Platte: $1^1/_2$ bis 6 mm im Durchm. haltende, wenig grauweiss gefärbte bis graue, schleimige, glänzende Colonieen, welche im durchfallenden Licht fast wasserhell sind. Scharfe Begrenzung. Mikrosk.: central vollkommen undurchsichtig, nur die periphere Zone graubraun, hell, sehr deutlich gekörnt. Stich: oberflächlich kreisrunde, kugelig erhabene, glänzende Auflagerung, Wachsthum nur im oberen Theile des Stiches gleichmässig. Strich wie O. IV	Platte: üppige, flach erhabene, spiegelnde, weisse Colon., welche mikrosk. schwarzbr., nur in ihrer äussersten Randzone durchsichtig u. granulirt erscheinen. Die Begrenzung sehr scharf. Stich wie F. VI	bisweilen wie F. I, bisweilen ohne Bildg. eines oberfl. Häutchens, dann mit schleimig-flockigem Bodensatz	nach 24 Stdn.: glänzender, flacher Ras. von der gelb. Farbe der Kartoffel; beg. Gasbildung; nach 2 × 24 Stdn.: hoher, üppiger Ras., im oberen Theile flach mit buckelig aufgeworfenen Rändern; nach 5 × 24 Stdn.: enorme Gasbildung; der schmutzig-gelbe Ras. in seiner grösst. Ausdehnung hoch abgehoben, abfliess.

Tabelle X. (Fortsetzung.)

Lfde. Nr.	Protokoll-Bezeichng.	Fundort, Datum der Reinzüchtung	Wachsthum auf: Agar	Gelatine	Bouillon	Kartoffel
17	O. VI	Ozaena. 21. XII. 1899	Platte: ca. 4 mm im Durchm. messende, kugelig erhabene, grauweisse, schleimähnliche Col. mit intensivem Glanz, bei durchfallendem Licht central opaker, der Rand hell, eine deutliche radiäre Streifung schon makrosk. erkennen lassend. Mikrosk.: central undurchsichtig, die Peripherie dunkelgrau, dicht u. grob granulirt. Die Körnung wird gegen d. Rand zu locker. Die Randcontour scharf, wenn auch nicht von einer Stäbchenreihe, sondern von locker u. unregelmässig neben einander liegenden Stäbchen gebildet. Stich: oberflächliche, hohe, glänzende, graue Auflagerung; breites, bandförmiges Wachsthum im oberen Theile des Stiches. Strich: grauweisser, hoch erhabener Strich, wachsig glänzend, scharf begrenzt, abfliessend; nach 2 × 24 Stunden ist der Strich stark abgeflossen, flach. Condenswasser grauweiss, nicht ausfliessend	Stich wie F. VI. Bräunung an der Oberfläche	dichte Trübung, an der Wand d. Eprouvette grauer Beschl., auf der Oberfläche schmales, ringförm. Häutchen, mit dem Wandbeschlag zusammenhängend u. von derselben Beschaffenheit wie bei den übrigen Stämmen. Am Boden graue Flocken und Fäden	nach 24 Stdn.: erhabener, trocken glänzend., fein gestichelter Rasen von der Farbe der Kartoffel, mit erhöhtem feuchtem Rand; nach 2×24 Stdn: im unteren Theil feucht glänzend; der Rasen beginnt abzufliessen. Im weiteren Verlaufe mässig starke Gasentwickelung.
18	O. VII	Ozaena. 14. I. 1900	Platte: graue, flach erhabene, intensiv glänzende Col. mit breitem wasserhellem Rand. Die Begrenzung ist zumeist scharf kreisförmig, nur bei einigen wenigen ausgebuchtet. Mikrosk. sind die Col. central braun, undeutlich granulirt, gegen die Peripherie zu heller werdend, der Rand sehr blass, die Begrenzung äusserst fein gezackt. Radiäre Faserung. Stich: flach kugelig erhabene, oberflächl. Auflagerung von wenig Eigenfarbe, die	Platte: flach kugelig erhabene, grauweisse, spiegelnde Colon. mit breitem hellem Rand. Mikrosk.: central undurchsichtig, im Uebrigen braungrau, sehr deutl. granulirt, scharf begrenzt. Stich: keine Bräunung	diffuse, ziemlich dichte Trübung, geringer, zarter Wandbeschlag, kleine Flöckchen auf der Oberfläche; am Boden nicht reichlicher, faltig aufwirbelnder Bodensatz	nach 24 Stdn.: glatter, spiegelnder, wenig erhabener Rasen von weissgelber Farbe; nach 3 × 24 Stdn. ist der Rasen im unteren Theil fast vollkommen abgeflossen, so dass die Kartoffeloberfläche nur von einem dünnsten, glänzenden,

			zend und kleinwellig begrenzt ist. Strich: nur wenig erhabener, grauweisser, spiegelnder Strich; nach 3 × 24 Stdn. ist derselbe abgeflossen, flach, grau			Ueberzug bedeckt ist. Im oberen Drittel ist der Rasen wie nach 24 Stdn. hellgelb, spiegelnd, sehr wenig erhaben
19	O. VIII	Ozaena. 12. II. 1900	Platte: flach erhabene, glänzende, grauweisse, schleimige Col., deren Centrum gegenüber dem breiten hellen Rand opaker ist. Mikroskop. sind die Col. central undurchsichtig, peripher graubraun, sehr scharf und deutlich gekörnt. Der Rand scharf, von einzelnen Stäbchen gebildet. Die Col. zeigen eine schon makroskopisch sichtbare, unregelmäss. radiäre Streifung. Stich: ausgebreit. spiegelnde Oberflächenauflagerung. Wachsthum im Stich gleichmässig mit zapfenförmigen Fortsätzen in den Nährboden. Nach 3 × 24 Stdn. ist die Oberflächenauflager. opak grauweiss, überall bis fast an die Wand reichend. Strich: schleimartiger, glänzender, abfliessender Belag, der nach 3 × 24 Stdn. fast vollkommen abgeflossen ist	Platte: grauweisse, flach erhabene, durchscheinende Colon. mit hellem Rand. Mikrosk.: hellbraun, der Rand farblos, im Ganzen granulirt, welliger Cont. Stich: Nagelcultur. Sehr hohe, kugelige Oberflächenauflager. Intensive Bräunung in den oberen $^2/_3$ d. Gelatinesäule	wie O. VII	nach 24 Stdn.: kaum sichtbarer, schleierartiger, glänzender Ueberzug über den geimpften Theil der Kartoffel; nach 3 × 24 Stdn.: hellgelber, flacher, glänzender Rasen; nach 5 × 24 Stdn.: geringe Gasbildung
20	O. IX	Ozaena. 12. II. 1900	Platte: kugelig erhabene, glänzende Col., deren Centrum graugelb, deren Rand hell ist. Schon makroskop. lassen dieselben eine feine radiäre Streifung erkennen. Mikroskop.: central undurchsichtig, peripher hellgraubraun und sehr deutlich granulirt. Stich: wie O. VIII. Strich: spiegelnder, abfliessender Rasen von wenig Eigenfarbe	Stich: Nagelcultur. Die oberflächl. Auflag. flach kugelig erhaben. Bräunung in d. oberen Hälfte	wie O. VIII	nach 24 Stdn.: intensiv glänzender Belag, der sich in Farbe von der Kartoffel nicht unterscheidet, nur etwas höher als der Rasen von O. VII; nach 3 × 24 Stdn.: Kartoffel dunkelgrau verfärbt; hellgelber, dünnster schleierartiger, glänzender u. abfliessender Belag; nach 5 × 24 Stdn.: Rasen etwas höher, geringe Gasbildung

Tabelle X. (Fortsetzung.)

Lfde. Nr.	Protokoll-Bezeichng.	Fundort, Datum der Reinzüchtung	Wachsthum auf: Agar	Gelatine	Bouillon	Kartoffel
21	Scl. I	Laboratoriumsstamm, durch längere Zeit fortgezüchtet	Platte: 1 bis 2 mm im Durchm. messende kreisrunde, flache oder flach erhabene, helle, glänzende Col. von wenig Eigenfarbe. Die Ränder durchsichtig. Mikrosk.: homogen hellgelb-bräunliche, unregelmäss. feinzackig begrenzte Colonieen, welche bei schwacher Vergrösser. keine, bei starker eine undeutl. Körnung erkennen lassen. Stich: graue, glänzende, dicke, oberflächliche Auflagerung. Der Stich grau mit zart gefärbten Fortsätzen in die Nährsubstanz eindringend. Strich: spiegelnder, abfliessender, sehr wenig fadenziehender, gleichmässig grauweisser Belag. Der Rand sehr scharf, hell	Platte: wenig grauweiss gefärbte, flach erhabene, glänzende Col. mit heller Periph. Mikrosk.: graubraune, deutl. granulirte Col., deren Rand farblos, ebenfalls gekörnt und vollkommen scharf begrenzt ist. Stich: Nagelcultur. Keine Bräunung	nach 24 Stdn.: wenig getrübt, dünner, zarter, blaugrauer Wandbeschl., am Boden spärlicher wolkiger Bodensatz. Am 4. Tag der Wandbeschlag breit, grauweiss, ein wenig auf die Oberfläche der Bouill. übergehend	nach 24 Stdn.: spärlicher, glänzender, feuchter Rasen ohne Eigenfarbe; nach 2 × 24 Stdn.: schmutzig-graugelb, erhaben. Keine Gasbildung.
22	Scl. II	aus Kral's Laboratorium am 31. VII. 1899 erhalten. Derselbe war von Hrn. Kral aus einem Scleromfall gezüchtet worden	Platte: grosse, flach erhabene, wenig grau-weiss gefärbte, im Centrum opaker, peripher hell erschein., scharf begrenzte, glänzende Col., welche schon makroskop. radiäre Streifung erkennen lassen. Mikroskop.: central braun, Rand sehr hell, grobe radiäre strahlige Zeichnung (bei A-Linse), Begrenzung scharf, Col. besonders in der Peripherie deutlich und fein (bei C-Linse) granulirt. Stich: flache, graue—grauweisse, glänzende Auflagerung. Der Stich blassgrau mit zartem welligen Contour Strich: wie Scl. I, sehr stark abfliessend	Stich: wie Scl. I	nach 24 Stdn.: wie Scl. I; nach 4 Tagen: der Wandbeschlag nicht stärker entwickelt, schleimige Flöckchen auf der Oberfläche der Bouillon	etwas schmutzig-graugelb gefärbter, glänzender, leicht erhabener Rasen. Keine Gasbildung.
23	Scl. III	von Hrn. Doc. Dr. H. Albrecht am	Platte: kugelig erhabene, grauweisse, vielfach confluirende und dann sich abflachende Colonieen mit hellem Rand und starkem Glanz. Mikroskop.: graubraun.		nach 24 Stdn.: leicht diffus getrübt, an d. Wand d. Eprouvette grauweisser, ring	nach 24 Stdn: weniger erhabener, feucht glänz. Rasen von etwas graugelber Eigenfarbe;

		… VIII. 1899 erhalten	peripher eine Körnung erkennen lassend, Rand hell, scharf begrenzt. Stich: kein Oberflächenwachsthum; blassgrauer, wellig begrenzter Stich. Strich: spärlich entwickelter, wenig erhabener, grauweisser, glänzender, etwas abfliessender Rasen	Stich: oberflächliche kleine, runde, leicht erhabene, opak grauweisse und glänzende Auflager.; gleichmäss. Wachsthum im Stich	förm. Belag, der sich beim Schütteln der Eprouv. zum kleineren Theil flockig löst, zum Theil festhaftet. Geringer Bodensatz. Am 4. Tage ist d. Wandbeschlag auch über die Oberfläche ausgebreitet, zertheilt sich rasch	nach 3 × 24 Stdn.: dicker, saturirt gelbgrauer Belag, kaum abfliess., nicht fadenzieh. Keine Gasbildung. Bei einer späteren Cultivirung auf Kartoffel zeigt Stamm Scl. III sehr spärl. Wachsthum, das nur am Glanz des Impfstriches erkennbar ist
24	Scl. IV	excochleirtes Gewebsstückchen eines Scleromfalles, am 12. II. 1900 erhalten von Hrn. Assist. Dr. Ebstein	Platte: ca. 5 mm im Durchmesser messende, flach kugelig erhabene, spiegelnde Colon. von schmutzig-grauer Farbe mit einem Stich in's Gelbe. Das Centrum opaker, der Rand hell. Mikrosk.: central dunkelbraun, undurchsichtig, peripher graubraun, gegen d. Rand heller werdend, granulirt. Der Contour scharf, von einzeln liegenden Stäbchen gebildet. Stich: oberflächliche, flach kugelig erhabene, glänzende, weissgraue Auflagerung; blassgrauer, glatter Stich. Strich: spiegelnder, scharf begrenzter, üppiger, hoher, grauweisser bis graugelber Rasen, sehr stark abfliessend	Platte: grauweisse, flach erhabene, glänzende Col. mit hellem Rand. Mikrosk.: gleichmässig gelbbraun, sehr zart granulirt, scharf begrenzt. Stich: Nagelcultur. Oberfl. Auflagerung kugelig erhaben, porzellanähnl. glänzend, reinweiss. Keine Bräunung	nach 24 Stdn.: wenig diffus getrübt, oberflächlich graue Flöckchen, an der Wand schmaler, reifförmiger Belag. Am 4. Tage: Befund wie bei F. I	nach 24 Stdn.: ganz flacher, glänzender, schleierartiger Ueberzug; nach 8 × 24 Stdn.: heller, grauer bis graugelber, spiegelnder, leicht erhabener, abfliessender Rasen. Keine Gasbildung.
25	B. c. Pf.	aus Kral's Laboratorium im März 1900 erhalten	Platte: flache, hellgraue, spiegelnde Col. von scharf kreisrunder Gestalt. Mikrosk.: hellbraun mit ausserordentlich dichter, feiner Körnung. Die Peripherie hell. Die Zeichnung daselbst nicht deutlich, der Rand fein gezähnelt; einzelne Col. radiär gefasert. Stich: flache, grauweisse, oberflächliche Auflager., z. Th. feucht glänzend, z. Th. trüb mit gekräuselter Oberfl.; im Stich bis hinab gleichmäss. Wachsthum, bandförmig mit welliger Begrenzung. Lebhafte Gasbildung. Strich: flacher, grauweisser Strich mit weisser Fleckung u. Felderung, in der Mitte etwas abfliess., m. scharfer Begrenz., leicht irisirend. Nach 2 × 24 Stdn. ist derselbe gleichmäss. opak weiss, undurchscheinend	Platte: blassgraue, flache, irisirende, trock. glänzende Col. Mikr.: blass graugelb, sehr deutlich granulirt mit welliger Begrenzung. Stich: flach erhabene, glänzende, opak weisse oberflächl. Auflager., 3 mm im Durchmesser haltend. Geringe Bräunung unter der Oberfläche	nach 24 Stdn.: dichte Trübung ohne Ring; nach 2 × 24 Stdn.: dünner Reif an der Wand d. Eprouvette. Am 4. Tage: schmaler, zart grau gefärbter Ring, reichlicher, wolkiger Bodensatz. Bisweilen Bildung eines schleimigen Oberflächenhäutchens	nach 2 × 24 Stdn.: erbsengelber Belag von geringer Höhe; die Kartoffel grau verfärbt, der Rand gebuchtet.

Tabelle X. (Fortsetzung.)

Lfde. Nr.	Protokoll-Bezeichng.	Fundort, Datum der Reinzüchtung	Wachsthum auf: Agar	Gelatine	Bouillon	Kartoffel
26	A. I	von Hrn. Assist. Dr. Moro (Univ.-Kinderklinik zu Graz) am 23. VIII. 1899 aus Säuglingsfäces gezüchtet; am 25. VIII. 1899 erhalten	Platte: spiegelnde, graue Colon., deren Centrum weiss gefärbt ist, von unregelmässig kreisförmiger Gestalt und mit hellem Rand. Mikrosk.: homogen braun im Centrum, die Randzone hell, undeutlich granulirt, gezackt begrenzt. Stich: glänzende, grauweisse, sehr wenig erhabene oberflächl. Auflagerung. Wachsthum bis in die Tiefe des Stiches in Form eines unregelmässig kleinwellig begrenzten zarten Bandes. Strich: grauweisser, leicht erhabener, intensiv glänzender Strich mit scharfem Rand; die Randzone wenig höher als die Mitte, in der die Cultur abfliesst	Platte: weisse, runde, stecknadelkopfgrosse, bis 2 mm im Durchmesser haltende, glänzende Col. mit heller Randzone, flach erhaben, leicht irisirend. Mikrosk.: braungelb, der Rand sehr hell, fein granulirt. Die Begrenzung meist scharf kreisrund, bei einigen unregelmässig wellig ausgebuchtet. Stich: flache, grauweisse, oberflächliche Auflagerung. Keine Bräunung	nach 24 Stdn.: an der Wand dünner, kaum bemerkbarer Ring, dichte Trübung; nach 4 × 24 Stdn.: der Ring deutlicher, kein Häutchen, flockig und fädig aufwirbelnder Bodensatz	nach 24 Stdn.: wenig erhabener, trockener, gelbbrauner Rasen. Im weiteren Verlaufe bleibt die Farbe unverändert, der Rasen ist stärker erhaben, der Rand aufgeworfen. Keine Gasbildung.
27	A. II	Säuglingsfäces, Ende Juli 1899	Platte: flach erhabene, opake, schmutzigweisse Col., 2 bis 3 mm im Durchmesser, glänzend mit gestichelter Oberfläche. Die Peripherie hell, scharf begrenzt. Mikrosk.: gleichmässig dunkelbraun, wie bestäubt aussehend, eine schmale Randzone farblos, wasserhell und eine feine Körnung deutlich erkennen lassend. Stich: wie A. I. Strich: opak weisser, dünner, scharf begrenzter Rasen	Platte: blassgraue, kreisförmige, irisirende Colon., 1 bis 3 mm im Durchmesser, von scharfer oder unregelmässiger Kreisform. Mikrosk.: gleichmässig hellbraune, wie bestäubt aussehende Col. ohne körnige Zeichng. Die Begrenzung wellig. Stich: oberflächl. Auflagerung flach, von saturirt weissgrauer Farbe, spiegelnd. Stich [illegible] grau [illegible]	nach 24 Stdn.: in der dicht getrübten Bouillon kleinste Flöckchen, zarter, grauweisser Ring, grob fetziger und flockiger Bodensatz; nach 4 × 24 Stdn. ist der Wandreif breiter, der Bodensatz sehr reichlich, aus grossen Flocken und kleineren Häutchen bestehend	nach 24 Stdn.: erhabener, hellgelber, sehr zäher, abfliessender Rasen. Am 5. Tage intensive Gasbildung.

28	A. III	Säuglingsfäces. 4. VIII. 1899	[illegible] kreisförmig scharf begrenzte Col., 2 mm im Durchmesser, mit heller, durchscheinender Randzone. Mikrosk.: dunkelbraune Col., deren Peripherie farblos ist und eine feine Granulirung wahrnehmen lässt. Das Centrum verwischt, radiäre Faserung. Die Begrenzung scharf. Stich: oberflächl., unregelmässig kreisförmige, flache, glänzende, central opak grauweisse, peripher helle Auflagerung.	[illegible] spiegelnde, flache, scharf kreisförmige, irisirende Col. mit sehr hellem Rand. Mikrosk.: Mitte hellbraun, gegen den klein gewellten u. gezähnelten Rand ganz blass werdend, mit radiärer Faserung; die Randzone sehr scharf granulirt. Stich: opak weisse, flache, kreisrunde, scharf begrenzte, porzellanähnliche Auflagerung. Weisser, fadenförmiger Stich	[illegible] dichte Trübung, wie feingekörnt, grauweisser, ringförmiger Belag, fädiger u. flockiger Bodensatz, der rasch wieder zu Boden sinkt; nach 2 × 24 Stdn.: sehr zarte Kahmhaut, deren Bildung unregelmässig ist	A. II; nach 2 × 24 Stdn.: Kartoffel grau verfärbt; üppiger, erhabener, abfliessender, graugelber Rasen, dessen Rand etwas aufgeworfen u. sehr unregelmässig ausgebuchtet ist; nach 3 × 24 Stdn.: beginnende Gasbildung, die gering bleibt.
29	A. IV	Säuglingsfäces. 18. VIII. 1899	Platte: opak gelbweisse, flach erhabene, glänzende, kreisrunde Colon. mit einem Durchmesser bis zu 3 mm. Mikrosk. sind die Col. im Centrum homogen braun, die äusserste Randzone sehr hell, farblos, gezackt, undeutlich granulirt. Stich: flache, weisse, ungefähr kreisrunde, wellig begrenzte Auflagerung. Stich gleichmässig weiss. Strich: wenig erhabener, trocken glänzender, runzliger Rasen von grauweisser Farbe. Der Rand scharf, feucht glänzend, höher	Platte: grauweisse, flache glänzende Col. Mikrosk.: gleichmässig hellbraun mit radiärer Faserung, der Rand fein gezähnelt. Stich: Bräunung im oberen Theile	nach 2 × 24 Stdn.: diffus, dicht getrübt. Reif, reichl. weisser Bodensatz, der aus einem zusammengeballten Häutchen besteht, das sich bei stärkerem Schütteln in zahlreiche kleinere und grössere Flöckchen vertheilt	nach 24 Stdn.: üppiger, hell-graugelber Rasen, dessen Rand etwas aufgeworfen ist, flach abfällt u. gestrichelt ist. Trockener Glanz. Beginnende Gasbildung; nach 4 × 24 Stdn.: Gasbildung bleibt gering. Rasen nicht verändert.
30	A. V	Säuglingsfäces. 18. VIII. 1899	Platte: flache und flach erhabene, hellgraue, glänzende Col., scharf kreisförmig. Mikrosk.: graubraun, Peripherie farblos, gekörnt; fein gezähnelter, gleichmässig kreisförmiger Contour. Stich: flache Auflagerung von grauweisser Farbe, die Randzone glänzend, central trocken, uneben. Strich: flacher, trockener, grauweisser, runzeliger Rasen mit welligem Contour	Stich: wie A. IV.	wie A. IV; bisweilen bleibt das Häutchen auf der Oberfl. schwimmen	nach 24 Stdn.: Rasen sehr ähnlich dem von A. I, doch nicht so trocken und braun; nach 2 × 24 Stdn.: erhabener, gelbbrauner, sehr trockener Rasen mit aufgeworfenem welligem Rand; beginnende Gasbildung.

Tabelle X. (Fortsetzung.)

Lfde. Nr.	Protokoll-Bezeichng.	Fundort, Datum der Reinzüchtung	Wachsthum auf: Agar	Gelatine	Bouillon	Kartoffel
31	A. VI	Pleuritisches Exsudat. 25. X. 1899	Platte: grauweisse, erhabene, glänzende Col. mit hellem, durchscheinenden Rand. Mikrosk.: schmutzig-braune Col. mit verwischter Zeichnung, gegen die Peripherie etwas abblassend, eine deutl. Granulirung erkennen lassend. Die Randzone farblos. Stich: weisse Oberflächen-Auflagerung, welche das Glas nach 2 × 24 Stdn. erreicht hat, ganz flach ist. Strich: grauweisser, leicht erhabener, glänzender Rasen mit scharfer Begrenzung	Platte: opak grauweisse, flach erhabene, glänz., porzellanähnl. Col., d. mikrosk. centr. dunkelbr., undurchs. homogen, in der farbl. Randz. deutl. granulirt sind. Begrenzung fein gezähnelt in Kreisform. Stich: trockene, grauweisse, nicht glänz., runzl., flache Auflager. Der Stich zusammengesetzt aus kl. Körnern	wie A. II	nach 2 × 24 Stdn.: üppiger, schmutzig-hellgelber Rasen mit trocken glänzender, ebener Oberfläche. Der Rand festonartig; nach 3 × 24 Stdn.: beg. Gasbildung; nach 5 × 24 Stdn.: mässig starke Gasbildung, der Rand nach aussen abgeflacht.
32	A. VII	Cystitis. 26. X. 1899	Platte: weissgraue, wenig erhabene Col. mit hellem Rand. Mikrosk.: dunkelbraune Colon., ohne Zeichnung, trübe aussehend, Rand hellbraun, granul., Begrenz. scharf. Stich: flache, grauweisse, spiegelnde Auflagerung; der Stich blassgrau, wellig contourirt. Strich: flach erhabener, grauer, abfliessender, spiegelnder Rasen mit zart welligem Rand	Platte: opak grauweisse, flache Colonie. Mikrosk.: gleichm. rehbraun, bestäubt, an der Peripherie heller, der Rand sehr scharf. Stich: reinweisse, porzellanähnl., glänz., flach kugel. erhabene, scharf begrenzte oberfl. Aufl. Keine Bräunung	dichte, diffuse Trübung mit wolkigem, fadenziehendem Bodensatz	nach 2 × 24 Stdn.: erhabener, hellgelber, trocken glänzender Rasen mit ganz geringer beg. Gasbildung; nach 4 × 24 Stdn.: äusserst intensive Gasbildung, der Rasen sonst unverändert.
33	A. VIII	Cystitis. Anfangs Novbr. 1899	Platte: grosse, flache bis flach erhabene, graue, spiegelnde Col. Mikrosk.: braun, bei schwacher Vergrösserung bestäubt aussehend; die Peripherie hellbraun, erst bei C-Vergrösserung sehr deutliche Körnung zeigend. Der Randcontour feinst gezackt. Stich: wenig flach, kugelig erhabene, ca. $^1/_2$ cm im Durchmesser messende oberfl. Col., deren Centrum ziemlich opak grau-	Platte: flach erhab., opak grauw. Col. mit hellem Rand u. starkem Glanz. Mikrosk.: centr. undurchs. dunkelbr., dann heller werdend, wie bestäubt, dann granulirt, immer deutl. bis zur blassgelbbraun.	dichter, grauweisser Wandbeschlag, der sich in ein Häutchen fortsetzt, das fast die ganze Oberfläche überzieht; dasselbe ist grau, nicht so dicht wie beispielsweise bei F. I und	nach 24 Stdn.: leicht gelblich gefärbter, wenig erhabener, glänzender Rasen mit erhöhtem Rand; nach 5 × 24 Stdn.: Spur von Gasbildung.

			von intens., nicht feuchtem Glanz. Nach 4 × 24 Stdn. ist die Aufl. opak weiss. Strich: flach erhabener, scharf begrenzter, glänzend., abfliess. Rasen von wenig grauer Eigenfarbe. Condensw. leicht ausfliessend	zähnelt ist. Stich: flach erhabene, reinweisse, glänzende, porzellanähnl. oberfl. Aufl. Keine Bräunung	leichtem Wenden der Eprouvette. Zuweilen sinkt das Häutchen von selbst auf d. Boden d. Epr.	
34	A. IX	Stuhl eines Erwachsenen. 10. XI. 1899	Platte: flache, hellgraue, spiegelnde Col. mit hellem Rand. Mikrosk.: central braun, gegen die Peripherie hin abblassend, daselbst farblos, der Rand feinst gezähnelt; die Col. im Ganzen bestäubt ausseh. Nach 3 × 24 Stdn. sind die Col. opak grauweiss. Stich: flache, grauweisse, runzlige, oberflächliche Auflagerung. Strich: flacher, weisser, ein wenig irisirender Rasen, der aus runden, einzelnen confluirenden Colon. zusammengesetzt ist	Stich: flache, mattgraue, wenig glänzende oberfl. Auflagerung. Buchtiger Contour. Keine Bräunung	nach 24 Stdn.: diffus getrübt; nach 4 × 24 Stdn.: breiter, irisirender, zarter Ring an der Glaswand; geringer, weisser, wolkiger Bodensatz	nach 2 × 24 Stdn.: erbsengelber, sehr wenig erhabener, unebener Rasen mit mässigem Glanz; nach 7 × 24 Stdn.: keine Gasbildung, unverändert.
35	A. X	Bronchiektasie nach Kali causticum-Vergiftung. 11. XII. 1899	Platte: makrosk. wie A. IX. Mikrosk. sind die Col. central sehr dunkel, braun, gegen die Peripherie hin abblassend, die äusserste Randzone farblos; die Peripherie fein gezähnelt; die Col. wie bestäubt. Stich: oberfl. grauweisse Auflagerung, die central opaker, fast weiss ist. Wachsthum im ganzen Stich gleichmässig, bandförmig. Strich: opaker, grauweisser, flach erhabener Strich von intensivem Glanz und scharfer Begrenzung. Der Strich ist an seinen Rändern höher als im centr. Theile	Stich: wenig erhab., grauweisse, glänzende oberfl. Auflagerung. Leichte Bräunung unter der Oberfläche	wie A. VII	nach 24 Stdn.: erhabener, gelber, trockener Rasen; die Kartoffel grau verfärbt; nach 2 × 24 Stdn.: Rasen noch höher, sonst unverändert trocken, gelb, beg. Gasbildung; nach 3 × 24 Stdn.: intensive Gasbildung. Im weiteren Verlauf ist der Ras. gelb, stark abfliess., feucht glänz.
36	A. XI	Cholecystitis	Platte wie A. IX. Stich: ganz flache, kreisförmige, scharf begrenzte Col., welche eine centrale, unregelmässig begrenzte, etwas mehr erhabene und weiss gefärbte Partie zeigen. Wachsthum im Stich körnig; nach 3mal 24 Stdn. ist die Auflagerung opak grauweiss, saftig glänzend. Strich: grauweisser, opaker Rasen, die Oberfläche uneben, wie chagrinirt. Der Rand des Rasens aufgeworfen, gelappt	Platte: blassgraue, glänz., flache, erhabene, durchscheinende Col., die mikrosk. gleichm. gelbbraun, gekörnt u. scharf begrenzt sind. Stich wie A. X. Bräunung der oberen Gelatineschichten	wie A. VII	nach 2 × 24 Stdn.: erbsengelber, erhaben., glänzender Rasen mit aufgeworfenem, saumartigem Rand; nach 7 × 24 Stdn.: keine Gasbildung, unverändert.

Tabelle X. (Fortsetzung.)

Lfde. Nr.	Protokoll-Bezeichng.	Fundort, Datum der Reinzüchtung	Wachsthum auf: Agar	Gelatine	Bouillon	Kartoffel
37	A. XII	Bronchitis purulenta. 1. II. 1900	Platte wie A. IX. Mikrosk.: im Centrum dunkel, entsprechend dem Abblassen gegen die Peripherie zu dunkelbraune, unregelmässige Sprenkelung auf lichtem Grund. Die Peripherie farblos, äusserst fein granulirt, der Rand gezähnelt. Stich: flache, grauweisse, glänzende Auflagerung, weinblattartig gelappt. Der Stich grauweiss, grobkörnig. Strich: grauweisser, opaker, glänzender Rasen mit gelapptem Rand	Platte: weissgraue, flach erhabene, glänz., stark irisirende Colon. Mikrosk.: dunkelbr. Col., geg. d. Rand kaum blasser werdend, die Peripherie sehr zart, aber deutl. granul. Andeutung einer radiären Streifung. Die Begrenzung sehr scharf. Stich: opak weisse, glänz., flache oder nur wenig erhabene Obfl.-Aufl.; keine Bräunung	wie A. VII	
38	B. c. s.	aus Kral's Laboratorium erhalten am 31. XII. 1899	Platte: ganz flache, kreisrunde, blassgraue, glänzende, im durchfallenden Licht wasserhelle Col., welche mikrosk. blass braungelb, undeutlich granulirt sind. Stich: oberflächlich trockener, matt glänzender, grauer Belag; gleichmässig feinkörniges Wachsthum in der ganzen Länge. Strich: flacher, zart grau gefärbter irisirender Rasen	Platte: ganz flache, trockene, bis 6 mm im Durchm. haltende, stark irisirende Col. Mikrosk.: landkartenartig unregelm. ausgebuchtete Begrenzung mit paralleler Faserung. Die Col. farblos. Stich: oberfl. flache, sehr dünne Auflagerng. mit unregelm. ausgebuchteter Periph., die gegenüber d. centralen Peripherie ohne Eigenfarbe e. graue, trocken. Farbe zeigt. Keine Bräunung	nach 2 × 24 Stdn.: kaum getrübt, ziemlich reichlicher, wolkig und fädig aufwirbelnder Bodensatz, geringer Wandbeschlag entsprechend der Oberfläche	nach 24 Stdn.: makroskopisch kaum wahrnehmbares Wachsthum; die Kartoffel erscheint entsprechend dem Strich feucht glänzend, leicht gelbbraun verfärbt; nach 2 × 24 Stdn.: dünner, gelber Belag; nach 3 × 24 Stdn.: Belag ganz wenig erhaben; nach 4 × 24 Stdn.: über den Rand der Kartoffel wachsend, keine Gasbildung.

Tabelle XI. **Biologisch-chemische Eigenschaften.**

Lfde. Nr.	Protokoll-Bezeichng.	Indol-bildung	Milch-coagulation	Lackmus-molke	Traubenzucker		Milchzucker		Rohrzucker	
					Gas-bildung	Säure-bildung in ccm	Gas-bildung	Säure-bildung in ccm	Gas-bildung	Säure-bildung in ccm
1	F. I	negativ	negativ	sauer, 1·5 Proc.	$^1/_5$	5·40	Kuppe	3·70	Kuppe	5·70
2	F. II	„	„	„ 7·0 „	$^1/_2$	5·45	$^1/_2$	4·60	$^1/_2$	5·95
3	F. III	„	„	„ 5·5 „	$^2/_5$	4·45	$^1/_7$	4·05	$^1/_5$	6·10
4	F. IV	„	„	„ 6·0 „	$^1/_{10}$	4·95	$^1/_7$	2·65	Kuppe	5·75
5	F. V	„	„	„ 3·0 „	ø	5·50	ø	3·80	ø	6·00
6	F. VI	„	„	„ 4·0 „	$^1/_{10}$	5·00	Kuppe	3·40	ausserst gering	6·00
7	F. VII	„	„	„ 3·0 „	$^2/_5$	4·15	„	3·20	wie F. VI	5·75
8	F. VIII	„	„	„ 7·0 „	$^2/_5$	4·10	$^1/_7$	2·90	wie F. VI	5·25
9	F. IX	„	„	„ 1·5 „	$^1/_4$	3·90	Kuppe	2·40	wie F. VI	5·00
10	F. X	„	„	„ 1·5 „	$^1/_5$	4·80	„	3·00	Kuppe	5·45
11	B. c. m. F.	„	„	neutral, war sauer	ø	5·25	ø	5·50	ø	6·60
12	O. I	„	positiv (3 × 24 Stdn.)	sauer, 4·0 Proc.	$^2/_5$	4·90	$^1/_4$	4·35	$^1/_7$	6·10
13	O. II	„	negativ	„ 5·5 „	$^3/_5$	5·25	$^1/_4$	4·45	äusserst gering	2·20
14	O. III	„	positiv (3 × 24 Stdn.)	„ 6·5 „	ø	4·70	$^1/_2$	4·95	wie O. II	5·60
15	O. IV	„	positiv (3 × 24 Stdn.)	„ 7·5 „	$^1/_4$	5·95	$^1/_6$	4·35	Kuppe	6·05
16	O. V	„	negativ	„ 6·5 „	$^1/_3$	3·60	$^1/_7$	2·50	$^1/_2$	4·80

Tabelle XI. (Fortsetzung.)

Lfde. Nr.	Protokoll-Bezeichng.	Indol-bildung	Milch-coagulation	Lackmus-molke	Traubenzucker		Milchzucker		Rohrzucker	
					Gas-bildung	Säure-bildung in ccm	Gas-bildung	Säure-bildung in ccm	Gas-bildung	Säure-bildung in ccm
17	O. VI	negativ	positiv (ca. 8 Tage)	sauer, 7·5 Proc.	$^1/_4$	4·45	$^1/_2$	4·40	wie O. II	5·80
18	O. VII	„	negativ	„ 3·0 „	$^1/_3$	4·45	$^1/_2$	3·90	sehr spärl. Wachsthum	
19	O. VIII	„	„	„ 1·0 „	$^1/_2$	4·85	$^1/_6$	2·90	ø	1·90
20	O. IX	„	positiv (nach ca. 8 Tagen)	„ 1·0 „	$^1/_2$	4·85	$^1/_2$	5·70	ø	1·80
21	Scl. I	„	negativ	neutral, war sauer	ø	5·30	ø	2·10	ø	3·95
22	Scl. II	„	„	sauer, war stärker sauer, 1·5 Proc.	ø	5·20	ø	4·80	ø	2·95
23	Scl. III	„	„	sauer, war stärker sauer, 1·2 Proc.	ø geringes Wachsth.	3·95	ø geringes Wachsth.	2·25	ø	2·80
24	Scl. IV	„	„	sauer, war stärker sauer, 1·5 Proc.	ø	5·60	ø	4·65	ø	1·45
25	B. c. Pf.	„	positiv (nach 3 × 24 Std.)	sauer, 20·5 Proc.	$^5/_6$	4·05	$^5/_6$	5·80	$^1/_1$	6·25
26	A. I	positiv	positiv (nach 24 Stdn.)	„ 10·0 „	$^1/_2$	5·90	$^2/_3$	6·30	$^1/_3$	3·35
27	A. II	negativ	positiv (nach 24 Stdn.)	„ 19·5 „	$^2/_3$	6·55	$^2/_3$	5·30	$^3/_5$	2·10

Tabelle XI. (Fortsetzung.)

Lfde. Nr.	Protokoll-Bezeichng.	Indol-bildung	Milch-coagulation	Lackmus-molke	Traubenzucker		Milchzucker		Rohrzucker	
					Gas-bildung	Säure-bildung in ccm	Gas-bildung	Säure-bildung in ccm	Gas-bildung	Säure-bildung in ccm
28	A. III	negativ	positiv (nach 24 Stdn.)	sauer, 16·0 Proc.	1/1	4·67	1/1	6·60	1/2	2·15
29	A. IV	„	positiv (nach 24 Stdn.)	„ 16·0 „	1/1	4·80	1/1	6·25	2/3	1·65
30	A. V	„	positiv (nach 2 × 24 Std.)	„ 13·0 „	1/1	4·30	1/1	5·25	1/1	5·85
31	A. VI	„	positiv (nach 24 Stdn.)	„ 17·0 „	1/1	4·90	1/1	4·90	2/3	2·35
32	A. VII	„	positiv (nach 24 Stdn. die Coag. noch nicht ganz vollendet)	„ 16·0 „	4/5	6·35	4/5	4·55	2/3	2·70
33	A. VIII	„	positiv (nach 24 Stdn.)	„ 16·5 „	4/5	5·30	1/1	7·30	1/1	5·20
34	A. IX	positiv	positiv (nach 2 × 24 Std.)	„ 9·5 „	2/5	6·60	1/2	5·65	äusserst gering	1·85
35	A. X	negativ	positiv (nach 2 × 24 Std.)	„ 12·0 „	1/1	4·55	4/5	6·05	3/4	2·40
36	A. XI	„	positiv (nach 24 Stdn.)	„ 16·0 „	5/6	4·90	1/1	5·50	2/3	2·65
37	A. XII	positiv	positiv (nach 24 Stdn.)	„ 7·0 „	1/2	6·55	3/4	4·85	äusserst spärliches Wachsthum	
38	B. c. s.	negativ	am 5. Tag beg. Coagulation, die am 6. Tag positiv ist	„ 8·5 „	2/5	5·70	1/4	4·60	1/2	4·85

Tabelle XII. **Thierpathogenität.**

Laufende Nr.	Stamm	Maus (1 Oese subcutan verrieben)			Meerschweinchen (1 Oese intraperitoneal eingebracht)				Kaninchen (Intraperitoneale Infection)				
		Datum der Impfung	Resultat	Cultur	Gewicht in grm	Datum der Impfung	Resultat	Cultur	Gewicht in grm	Menge des Impfmaterials	Datum der Impfung	Resultat	Cultur
1	F. I	April 1899	Exitus nach 36 Stdn.	Herz: +	ca. 350	April 1899	Exitus nach 36 Stdn.	Herz: +	1000	$2^1/_2$ Oesen	6. IV. 1900	überlebt 16. IV. 1900	—
		10. X. 1899	überlebt	—									
2	F. II	März 1899	Exitus nach 36 Stdn.	Herz: +	ca. 350	März 1899	Exitus nach 8 Tagen	„ +	?	2·0 ccm dichte Agarcult.-Aufschwemmung	März 1899	Exitus nach 24 Stdn.	Bauch: + Herz: +
		10. X. 1899	Exitus am 13. X. 99	„ +									
									1100	3 Oesen	6. IV. 1900	überlebt 16. IV. 1900	—
3	F. III	April 1899	Exitus nach 36 Stdn.	„ +	ca. 350	April 1899	Exitus nach 36 Stdn.	„ +	1060	3 Oesen	6. IV. 1900	überlebt 16. IV. 1900	—
		10. X. 1899	Exitus nach 24 Stdn.	„ +									
4	F. IV	April 1899	Exitus nach 36 Stdn.	„ +	ca. 350	April 1899	Exitus nach 36 Stdn.	„ +	1060	$2^1/_2$ Oesen	6. IV. 1900	überlebt 16. IV. 1900	—
		10. X. 1899	Exitus nach 60 Stdn.	„ +									
5	F. V	Mai 1899	Exitus nach 36 Stdn.	„ +	ca. 350	Mai 1899	Exitus nach 36 Stdn.	„ +	1000	2 Oesen	6. IV. 1900	überlebt 16. IV. 1900	—
		10. X. 1899	Exitus 11. X. 99	„ +									

6	F. VI	27. XII. 99 Mittags	Exitus 28. XII. Morg.	Herz:	+	400	27. XII. 99 12h Mittags	Exitus 3. I. 1900 Morg.	Herz:	+	1700	4 Oesen	27. XII. 99 Nachm.	überlebt 2. I. 1900	—
7	F. VII	30. XI. 99 Nachm.	Exitus 2. XII. Nachm.	„	+	300	30. XI. 99 Nachm.	Exitus 1. XII. Morg.	„	+	1200	4 Oesen	30. XI. 99 Nachm.	Exitus 1. XII. Morg.	Herz: +
8	F. VIII	27. XII. 99 Mittags	Exitus 28. XII. Morg.	„	+	360	27. XII. 99 Mittags	Exitus 28. XII. Morg.	„	+	1820	4 Oesen	27. XII. 99 Nachm.	überlebt 2. I. 1900	—
9	F. IX	17. IV. 00 Nachm.	Exitus 18. IV. Abends	„	+	400	12. I. 1900 Nachm.	Exitus 14. I. Morg.	„	+	1620	4 Oesen	12. I. 1900 Abends	überlebt 27. I. 1900	—
10	F. X						6. IV. 1900 Nachm.	Exitus 7. IV. Nachm.	„	+	1200	3 Oesen	6. IV. 1900 Abends	überlebt 16. IV. 00	—
11	B. c. m. F.	10. X. 99	Exitus 13. X. 99	„	+	280	16. XI. 99	überlebt 27. VI. 99	—		1060	3 Oesen	28. II. 1900 Nachm.	überlebt 10. III. 00	—
12	O. I	10. X. 99	Exitus 12. X. 99	„	+	300	16. XI. 99	überlebt 27. XI. 99	—		1260	3 Oesen	28. II. 1900 Nachm.	Exitus 1. III. Morg.	Peri-tonitis Herz: } Bauch: } Coli
13	O. II	10. X. 99	Exitus 13. X. 99	„	+	360	16. XI. 99	überlebt 27. XI. 99	—		1200	3 Oesen	28. II. 1900 Nachm.	überlebt 10. III. 00	—
14	O. III	10. X. 99	Exitus 13. X. 99	„	+	360	16. XI. 99	überlebt 27. XI. 99	—		1080	3 Oesen	28. II. 1900 Nachm.	überlebt 10. III. 00	—
15	O. IV	10. X. 99	Exitus 12. X. 99	—		340	16. XI. 99	überlebt 27. XI. 99	—		1440	3 Oesen	28. II. 1900 2h p. m.	Exitus 28. II. 9h Nachts	Bauch: + Herz: +
16	O. V	27. XII. 99 Mittags	Exitus 28. XII. Morg.	Herz:	+	400	27. XII. 99 Mittags	Exitus 30. XII. Morg.	Herz: + 2 Col.		1340	3 Oesen	27. XII. 99 Nachm.	Exitus 28. XII. Mittags	„ +
17	O. VI	27. XII. 99 Mittags	Exitus 28. XII. Morg.	„	+	440	27. XII. 99 Mittags	überlebt 2. I. 1900	—		1300	3 Oesen	27. XII. 99 Abends	Exitus 28. XII. Morg.	Herz: flacher, grauweiss. Ras., nicht Stamm O. VI

Tabelle XII. (Fortsetzung.)

Laufende Nr.	Stamm	Maus (1 Oese subcutan verrieben)			Meerschweinchen (1 Oese intraperitoneal eingebracht)				Kaninchen (Intraperitoneale Infection)				
		Datum der Impfung	Resultat	Cultur	Gewicht in grm	Datum der Impfung	Resultat	Cultur	Gewicht in grm	Menge des Impf-materials	Datum der Impfung	Resultat	Cultur
18	O. VII	18. I. 1900 Nachm.	Exitus 21. I. Morg.	Herz: +	400	18. I. 00 Nachm.	überlebt 28. I. 00	—	1200	3 Oesen	24. IV. 00 Nachm.	überlebt	—
19	O. VIII	17. II. 00 Abends	Exitus 20. II. Vorm.	„ +	340	17. II. 00 Abends	Exitus 18. II. Vorm.	Herz: +	1600	4 Oesen	17. II. 00 Nachm.	Exitus 18. II. Morg.	Bauch: + Herz: +
20	O. IX	17. II. 00 Abends	Exitus 19. II. Vorm.	„ +	320	17. II. 00 Abends	Exitus 19. II. Vorm.	„ +	1300	3 Oesen	17. II. 00 Nachm.	überlebt 28. II.	—
21	Scl. I	10. X. 99	überlebt 16. X. 99	—	220	17. IV. 00 Abends	Exitus 19. IV. Morg.	Bauch: 2 Col. Herz: —	1020	3 Oesen	17. IV. 00 Nachm.	überlebt 27. IV. 00	—
22	Scl. II	10. X. 99	überlebt 16. X. 99	—	240	17. IV. 00 Abends	Exitus 19. IV. Abends	Bauch: Staphylok. Herz: —	800	3 Oesen	17. IV. 00 Nachm.	Exitus 21. IV. 00	Bauch: — Herz: —
23	Scl. III	10. X. 99	überlebt 16. X. 99	—	400	16. XI. 99 5·0 ccm Blln.-Cult.	überlebt 27. XI. 99	—	1220	3 Oesen	17. IV. 00 Nachm.	überlebt nach Erkrankung 20. IV. 00	—
24	Scl. IV	17. II. 00	überlebt 28. II. 00	—	280	17. IV. 00 Abends	Exitus 22. II. 00	Bauch: — Herz: —	1220	3 Oesen	17. IV. 00 Nachm.	überlebt nach Erkrankg.	
					350	17. IV. 00 Abends	Exitus 18. IV. Vorm.	Bauch: 2 Col. Herz: —					
25	B. c. Pf.	6. IV. 00 Nachm.	Exitus 8. IV. Morg.	Herz: +	—	6. IV. 00 Nachm.	Exitus 7. IV. Nachm.	Bauch: + Herz: +	1120	3 Oesen	6. IV. 00 Abends	überlebt 16. IV. 00	—
26	A. I	10. X. 99	überlebt 16. X. 99	—	340	12. I. 00	Exitus nach 10 Tg.	nicht secirt	1340	3 Oesen	12. I. 00 Abends	Exitus 13. I. Morg.	Herz:

27	A. II	10. X. 99	überlebt 16. X. 99	—	340	12. I. 00	überlebt 25. I. 00	—	1000	2½ Oesen	24. IV. 00 Nachm.	Exitus 26. IV. Morg.	Bauch: + Herz: + Peritonitis
28	A. III	10. X. 99	Exitus 11. X.	Herz: —	300	12. I. 00 Nachm.	überlebt 25. I. 00	—	1280	3 Oesen	12. I. 00 Abends	Exitus 14. I. Morg.	Herz: +
29	A. IV	10. X. 99	überlebt 16. X.	—	300	12. I. 00 Abends	Exitus 14. I. 00	Herz: +	1300	3 Oesen	12. I. 00 Abends	überlebt 27. I.	—
30	A. V	10. X. 99	überlebt 16. X.	—	340	12. I. 00 Abends	überlebt 25. I.	—	1400	3 Oesen	12. I. 00 Abends	überlebt 27. I.	—
31	A. VI	1. XI. 99	überlebt 12. XI.	—	400	27. I. 00 Abends	Exitus 2. II. Vorm.	Bauch: — Herz: —	1240	3 Oesen	1. II. 00 Nachm.	Exitus 4. II. Abends	Herz: +
32	A. VII	1. XI. 99	überlebt 12. XI.	—	380	27. I. 00 Abends	überlebt	—	1220	3 Oesen	1. II. 00 Nachm.	Exitus 7. II.	Herz: — Es bestanden Diarrhöen
									940	2 Oesen	24. IV. 99 Nachm.	überlebt	—
33	A. VIII	16. XI. 99	überlebt 27. XI.	—	400	27. I. 00 Abends	Exitus 28. I. Morg.	Bauch: + Herz: —	1340	3 Oesen	1. II. 00 Nachm.	überlebt 10. II.	—
34	A. IX	16. XI. 99	überlebt 27. XI.	—	320	27. I. 00 Abends	Exitus 28. I. Morg.	Bauch: + Herz: —	1300	3 Oesen	1. II. 00 Nachm.	Exitus nach 18 Std. 2. II. 00	Bauch: + Herz: +
35	A. X	27. XII. 99 Mittags	überlebt 2. I.	—	420	27. XII. 99 Mittags	Exitus 28. XII. Morg.	Herz: 4 Col.	1400	3 Oesen	24. IV. 00 Nachm.	Exitus 25. IV. Abends	Bauch: + Herz: + Peritonitis
36	A. XI				360	27. I. 00 Abends	überlebt	—	900	2½ Oesen	24. IV. 00 Nachm.	überlebt	—
37	A. XII	17. II. 00 Abends	Exitus 21. II. Morg.	Herz: —	320	17. II. 00 Abends	überlebt 28. II. 00	—	1300	3 Oesen	17. II. 00 Nachm.	Exitus 18. II. Vorm.	Bauch: + Herz: +
38	B. c. s.	10. X. 99	überlebt 16. X. 99	—	360	16. XI. 99 6·0 ccm Blln.-Cult.	überlebt 27. XI. 99	—	1240	3 Oesen	17. IV. 00 Nachm.	überlebt 27. IV. 00	—

Litteratur-Verzeichniss.[1]

Abel, R., *Centralblatt für Bakteriologie.* 1893. Bd. XIII. S. 161. — *Diese Zeitschrift.* 1895. Bd. XXI. S. 89.

Achard et Renault, *Société de Biol.* Sitzung vom 9. April 1892. (*Compt. r. de la S. d. B.* 1892. Nr. 39.)

Alvarez, E., *Comptes r. des séances de l'Acad. des Sciences de Paris.* 1887. T. CV. p. 286.

Aufrecht, *Deutsches Archiv für klin. Medicin.* 1900. Bd. LXV.

Baart de la Faille, Bakteriurie bei Febris typhoidea. *Utrechter Dissertation.* Ref. B. J. 1895. p. 301.

Babes, V., *Centralblatt f. Bakteriologie.* Bd. II, S. 88 u. 617; Bd. VII u. IX. — *Verhandlungen des X. intern. med. Congr. zu Berlin 1890.*

Babes, V., et Oprescu, *Annales de l'Institut Pasteur.* T. V.

Bandler, A., *Zeitschrift für Heilkunde.* 1891. Bd. XII. S. 227.

Banti, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1895. Nr. 31. S. 493 u. 735. — *Sopra quattro nuove specie de protei o Bac. capsulati.* Florenz 1888.

Barlow, *Archiv für Dermatologie und Syphilis.* 1893. Bd. XXV. S. 355.

Baurowicz, A., *Przeglad lekarski.* 1895. Nr. 46—48. Autoref. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XVIII. S. 719.

Bender, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1887. Bd. I. S. 563. (Sammelreferat.)

Bernabei, *Società lancisiana degli ospedali di Roma.* Sitzung vom 13. Febr. 1892. Ref. B. J. 1892. S. 67.

Berliner, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1889. S. 1045.

Bonardi, *Il Morgagni.* 1895. Nr. 8. p. 1. Ref. B. J. 1895. S. 77.

Bordoni-Uffreduzzi, *Diese Zeitschrift.* 1888. Bd. III. S. 333.

Breda, A., *Giornale ital. delle malatti venerie.* 1892. Vol. III. Ref. B. J. 1893. S. 262.

Brunner, C., *Münchener med. Wochenschrift.* 1896. Nr. 13/14. S. 266, 318.

Buchner, H., *Berliner klin. Wochenschrift.* 1890. S. 673.

[1] Bei Zusammenstellung des folgenden Litteraturverzeichnisses wurden die trefflichen Arbeiten von Abel, Fricke und Wilde, die Bearbeitung Kruse's in Flügge's Handbuch, ferner die Jahresberichte, herausgegeben von Baumgarten und Tangl, benutzt.

Bunge, R., *Fortschritte der Medicin.* 1894. Bd. XII. Nr. 12 u. 17.

Canon, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1893. S. 1038.

Chiari, H., *Med. Jahrbücher von der Ges. der Aerzte.* Wien 1882. H. 2. — *Prager med. Wochenschrift.* 1895. S. 251.

Clado, Étude sur une bacterie septique de la vessie. *Thèse.* Paris 1887.

Clairmont, P., *Wiener klin. Wochenschrift.* 1899. Nr. 43. S. 1068.

Chrostowski und Jakowski, *Gazetta Lekarska.* 1888. Ref. *Centralblatt f. Bakteriologie.* 1890. Bd. VIII. S. 239.

Cohn, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1892. Nr. 44. S. 1097.

Comba, C., *Sperimentale.* 1896. Bd. LII. p. 112.

Cornil et Alvarez, *Bulletin de l'Ac. de Méd.* Paris 1885. p. 476. (Sitzung vom 31. März 1885.)

Cozzolino, *Annales de Laryngologie.* 1899.

Daché, *Annal. de la soc. méd. chir. de Liège.* 1890. Ref. B. J. 1890. S. 111.

David, *Les microbes de la bouche.* Paris 1890.

Denys, J., *Bull. de l'Ac. royale de med. de Belgique.* 1892. Bd. VI.

Denys, J., et Martin, J., *La Cellule.* 1893. T. IX. p. 261.

Dittrich, P., *Zeitschrift für Heilkunde.* Bd. VIII. S. 251. Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. II. S. 433.

Dmochowski, J., *Centralblatt für Bakteriologie.* 1894. Bd. XV. S. 581.

Doutrelepont, *Verhandlungen des 59. Naturforschertages 1886.*

Dreschfeld, *Fortschritte der Medicin.* 1885. Bd. III. S. 389.

Dreyfuss und Klemperer, *Verhandlungen des 68. Naturforschertages 1897.* Ref. B. J. 1897. S. 636.

Ducrey, *Giorn. ital. delle mal. ven.* 1898. (Citirt nach de Simoni.)

v. Dungern, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1893. Bd. XIV. S. 541. — *Diese Zeitschrift.* 1894. Bd. XVIII. S. 177.

Emmerich, *Archiv für Hygiene.* Bd. II.

Escherich, Th., *Darmbakterien des Säuglings.* Stuttgart 1886.

Etienne, G., *Arch. de méd. expérim.* 1895. T. VII. p 124.

Fasching, M., *Sitzungsberichte der Kaiserl. Akad. der Wiss. in Wien 1891.* Bd. C. Abth. III. S. 295.

Fermi, *Archiv für Hygiene.* Bd. X.

Finkler, D., *Die acuten Lungenentzündungen als Infectionskrankheiten.* Wiesbaden 1891.

Flerow, K. Th., *Russky Archiv Pathologii, Klinischeskoi, Medicinji i Bacteriologii.* Bd. I. p. 476. Ref. B. J. 1896. S. 99.

Foà, P., und Rattone, G., *Gaz. degli ospitali.* 1885. Nr. 12.

Fraenkel, A., *Verh. des 3. Congr. für innere Medicin.* 1884. — *Zeitschrift für klin. Medicin.* Bd. IX. S. 437. Bd X u. XI.

Fraenkel, A., *Wiener klin. Wochenschrift.* 1891. Nr. 13—15.

Fraenkel, E., Virchow's *Archiv.* Bd. XC. S. 499.

Fricke, C, *Diese Zeitschrift.* 1896. Bd. XXIII. S. 380.

Friedländer, C., *Fortschritte der Medicin.* 1883. Nr. 22. S. 715.

v. Frisch, A., *Wiener med. Wochenschrift.* 1882. S. 968.

Galvagni, *Archivo it di clin. med.* 1890. Bd. IV. p. 718. Ref. B. J. 1890. S. 82.

Gessner, C., *Archiv für Hygiene.* 1889. Bd. IX. S. 128.

Gerber, P. H., und Podack, *Deutsches Archiv für klin. Medicin.* Bd. LIV. S. 262.

Grimbert, L., *Annales de l'Institut Pasteur.* 1895. T. IX. p. 840. — 1896. T. X. p. 708. — *Soc. de Biol.* Sitzung v. 15. Febr. 1896 (*C. r de la S. d. B.* Nr. 6, p. 280). Sitzung vom 7. März (*ebenda.* Nr. 9. p. 660).

Grimbert, L., et Legros, G., *Ann. de l'Inst. Pasteur.* 1900. T. XIV p. 479.

Grotenfeld, *Fortschritte der Medicin.* 1889. Bd. VII.

Hajek, M., *Berliner klin. Wochenschrift.* 1888. S. 659.

Halban, J., *Wiener klin. Wochenschrift.* 1896. Nr. 44. S. 1002.

Hamilton, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1898. Abth. II. Bd. IV. S. 230.

Havas, *Ges. der Aerzte in Budapest* (Discussion im Anschluss an die Vorstellung eines Scleromfalles). Ref. B. J. 1892. S. 259.

Hebert, *Soc. de Biologie.* Sitzung v. 14. Oct. 1899. (*C. r. de la S. d. B.* p 794.) Sitzung v. 28. Octbr. 1899 (*ebenda.* p. 839).

Heyse, *Zeitschrift für klin. Medicin.* 1894. Bd. XXIV. S. 130.

Herla, V., *Archives de biologie.* 1896. Bd. XIV. p. 403.

Herzfeld, J., und Herrmann, Fr., *Hygien. Rundschau.* 1895. S. 642. — *Arch. f. Laryngol.* Bd. III.

Hlava (czechische Arbeit mit französ. Resumé). Ref. B. J. 1893. S. 320.

Howard, W. T. Jr., and Jngersoll, J. M., *Am. Journal of the med. sciences.* Mai 1898.

Hueppe, Discussion anschliessend an Pick's Demonstration (siehe Th. Pick).

Jaccoud, *Acad. de méd.* Sitzung v. 11. Febr. 1890. (*La Sem. med.* 1890. Nr. 7.) Ref. B. J. 1890. S. 105.

Jaeger, *Diese Zeitschrift.* 1895. Bd. XIX. S. 351.

Jaia, *Giorn. it. delle malatti ven.* März 1891. Ref. B. J. 1891. S. 263.

Jakowski, *Gazetta Lekarska.* 1892. Nr. 11. p. 219. Ref. B. J. 1892. S. 58.

Johne, *Deutsche Zeitschrift für Thiermedicin.* Bd. XIX.

Kayser, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1894. Bd. VIII. p. 737.

Derselbe, *71. Bericht der schles. Ges. für vaterl. Cultur.* 1894. Ref. *Intern. Centralblatt für Laryngol.* 1895. S. 699

Karlinski, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. VII. S. 113.

Klamann v. Luckenwalde, *Allgem. med. Centralzeitung.* 1885. S. 1069. — *Deutsche med. Wochenschrift.* 1888. Nr. 1.

Klein, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. V. S. 625.

Kobler, *Wiener klin. Wochenschrift.* 1894. S. 88.

Kockel, *Fortschritte der Medicin.* 1891. S. 331.

Köbner, Verein für innere Medicin zu Berlin, Sitzung vom 15. Juni 1885. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1885. S. 456.

Kolb, M., *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1891. Bd. VII. S. 60.

Kossel, *Charité-Annalen.* 1893. S. 498.

Kowalski, *Wiener klin. Wochenschrift.* 1890. Nr. 13/14.

Kraus, R., *Achas y Memorias del IX. Congr. intern. de Higiene y Demografia en Madrid.* Vol. I. p. 127.

Kraus, R., und Löw, O., *Wiener klin. Wochenschrift.* 1899. Nr. 5.

Kreibich *Ebenda.* 1896. Nr. 39. S. 861.

Kreibohm, Ueber das Vorkommen pathog. Mikroorganismen im Mundsecret. *Dissertation.* Göttingen 1889.

Krogius Ali, Recherches bactériolog. sur l'infection urinaire. Helsingfors 1892. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1894. S. 1006.

Kruse, *Die Mikroorganismen,* herausg. von Flügge. 3. Aufl. Bd. II. S. 336.

Kruse, Pansini und Pasquale, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. VII. Nr. 21. S. 657

Landsteiner, K., *Wiener klin. Wochenschrift.* 1897. S. 439.

Lemcke, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1893. S 617.

Léon, F., Le Bacille de Friedlaender, son rôle pathogène. *Thèse.* Paris 1897.

Létulle, *Bull. et mém. de la soc. méd. des hôpitaux de Paris.* Sitzung vom 30. Mai 1890. (*La Sem. méd.* 1890. p. 200.) Ref. B. J. 1890. S. 81.

Loeb, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1891. Bd. X. S. 369.

Loewenberg, *L'union medicale.* 1884. — *C. r. des travaux de la Soc. des sc. méd. de Gaunat.* 1884/85 p. 97. — *Deutsche med. Wochenschrift.* 1885. S. 5. 1886. S. 446. — *Annales de l'Institut Pasteur.* 1894. T. VIII. p. 292.

Lubliner, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1891. S. 983.

Malgaigne et Vauverts, Guyons *Annalen.* 1896. Nr. 8. Ref. B. J. 1896 S. 131.

Mandry, *Fortschritte der Medicin.* 1890. S. 205.

Marano, *Archivii ital. di Laringol.* 1890 Janvier. Ref. *Centralblatt f. Laryng.* 1891. S. 348.

Marchand, *Sitzungsber. der Ges. z. Beförd. d. ges. Naturw. zu Marburg 1893.*

Marpmann, *Ergänzungshefte d. Centralbl. f. allgem. Gesundheitspflege.* Bd. II.

Mibelli. Ref. B. J. 1888. S. 262.

Miller, *Die Mikroorganismen der Mundhöhle.* 1892.

Mills, *Journal publié par la s. v. des sc. méd. et nat. de Bruxelles.* 1892. Nr. 29. 16. Juli. Ref. B. J. 1892. S. 67.

Montt-Savedro, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XX. S. 171.

Morelle, A., *La Cellule.* T. VII. p. 241. T. VIII.

Mori, *Diese Zeitschrift.* 1888. Bd. IV. S. 47.

Moskowitz, *Pester med.-chirurg. Journal.* 1892. Nr. 6. Ref. B. J. 1891. S. 267.

Mosny, *Etude sur la bronchopneumonie.* Paris 1891. Ref. *C. f. B.* 1893. S. 614.

Müller, W., *Deutsches Archiv für klin. Medicin.* 1899. Bd. LXIV. S. 590.

Netter, *France méd.* 1889. Nr. 64. — *Bull. et mém. de la soc. méd. des hôpit. de Paris.* Sitzung vom 31. Mai 1890. Ref. B. J. 1890. S. 81. Desgl. Sitzung vom 26. Febr. 1897.

Nicolaier, A., *Centralblatt für Bakteriologie.* 1894. Bd. XVI. S. 601.

Nicolas, S., *Arch. de méd. exp.* Janvier 1898. Bd. X. p. 75.

Nicolle, Ch., et Herbert, A., *Annales de l'Inst. Pasteur.* 1897. T. XI. p. 67.

Nikiforoff, *Arch. f. exp. Path. u. Pharmak.* Bd. XXIV. S. 424.

Nötzel, *Fortschritte der Medicin.* Bd. XIV. Nr. 2. S. 41.

Orlowski, M. A., *Journal de méd. mil. russ.* Febr. 1895. Ref. B. J. 1895. S. 528.

Oro Mario, *Estratto degli Atti della R. Acad. di Napoli.* 1898. Bd. LII. Ref. *Wiener klin. Wochenschrift.* 1899. S. 497.

Paltauf, R., und v. Eiselsberg, A., *Fortschritte der Medicin.* 1886. S. 617.

Paltauf, R., *Wiener klin. Wochenschrift.* 1891. S. 974. 1892. S. 11. — B. J. 1891, 1892, 1894, 1897.

Pansini, Virchow's *Archiv.* Bd. CXXII. S. 424.

Passet, *Untersuchungen über die Aetiologie der eitr. Phlegmone des Menschen.* Berlin 1895.

Paulsen, Physiol. Verein zu Kiel, Sitzung vom 3. März 1890. — *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. VIII. S. 344. — *Mittheilungen für den Verein schlesw.-holst. Aerzte.* 1893. Nr. 7. Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1893. Bd. XIV. S. 249.

Pawlowski, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1885. S. 330. — *Verhandl. des X. intern. Congr. zu Berlin 1890.* — *Deutsche med. Wochenschrift.* 1894. S. 303 u. 323.

Perez, F., *Annales de l'Institut Pasteur.* 1899. Bd. XIII. p. 937.

Perroncito, *Acad. de med. de Turin.* 1885.

Perles, M., Virchow's *Archiv.* Bd. CXL. S. 209.

Petruschky, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1889. Bd. VI. S. 625.

Pfeiffer, R., *Diese Zeitschrift.* 1889. Bd. VI. S. 145.

Pick, Th., *Prager med. Wochenschr.* 1892. (Demonstr. 2 Fälle v. Rhinosclerom.)

Pipping, *Fortschritte der Medicin.* 1886.

Poels und Nolen, *Ebenda.* Bd. IV.

Prior, *Münchener med. Wochenschrift.* 1890. S. 233.

Reimann, Ueber Mikroorganismen im Nasensecret bei Ozaena. *Dissertation.* Würzburg 1887.

Robineau, Mlle., *Thèse de Paris.* 1899.

Roger, *Soc. de Biol.* Sitzung vom 13. Januar 1894. — *Gaz. méd. de Paris.* 1894. p. 43.

Rosenthal, Ein Beitrag zur Kenntniss der Bakterienflora der Mundhöhle. *Dissertation.* Erlangen 1893.

Rovsing, *Die Blasenentzündung, ihre Aetiologie, Pathogenese u. Behandlung.* Berlin 1890.

Russel, *Brit. Journ. of Dermat.* 1892. Nr. 42. Ref. B. J. 1894. S. 82.

Rydigier, *Archiv für klin. Chirurgie.* Bd. XXXIX. S. 675.

Scheffer, *Archiv für Hygiene.* 1897. Bd. XXXVI. S. 291.

Scheib, *Prager med. Wochenschrift.* 1900. Nr. 15. S. 169.

Schenk, *Beiträge zur Geburtshülfe und Gynäkologie.* 1898. Bd. I. S. 256.

Schnitzler, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. VIII.

Senger, *Arch. für exp. Path. u. Pharm.* 1886. Bd. XX. S. 389.

Sicard, *Soc. de Biol.* Sitzung vom 21. Oct. 1899 (*C. r.* p. 813).

de Simoni, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXV. Nr. 18/19. S. 625. — *L'ufficiale Sanitorio.* 1899 Jänner. Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXVI. S. 457. — *Ebenda.* 1900. Bd. XXVII. Nr. 12/13. S. 426.

Siredey, *Bull. et Mém. de la Soc. méd. des hôp. de Paris.* Sitzung v. 19. Juni 1897 (*Sem. méd.* p. 68.)

Smith, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1891. Bd. X. S. 180.

Solowjew, *Wratsch.* 1895. Nr. 12. Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1895. Bd. XVIII. S. 66.

Stepanow, *Monatsschrift für Ohrenheilkunde.* 1889. 23. Jahrg. Nr. 5.

Stoos, *Mittheilungen aus Kliniken und med. Instituten der Schweiz.* III. 1.

Strazzo, Osserv. bact. sull' ozena. *1. Congr. della soc. it. di Laring. etc.* Genova 1893.

Strelitz, *Archiv für Kinderheilkunde.* 1891. Bd. XIII.

Strong, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXV. Nr. 2/3. S. 50. — *The Boston City Hosp. Reports.* 1898.

Strübing, *Münchener med. Wochenschrift.* 1895. S. 901.

Terray, *Wiener med. Presse.* 1887. Nr. 37—39. Ref. *Centralbl. f. Bakteriol* 1887. Bd. II. S. 557.

Thost, A., *Deutsche med. Wochenschrift.* 1886. S. 161.

Tissier, *Gaz. des hôp.* 1892. p. 1019. Ref. B. J. 1892. S. 260.

Uffelmann, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1887. S. 726.

Ury, J., *Archiv für exper. Pathol. und Pharmakol.* 1894. Bd. XXXIII. S. 464.

Wicklein, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XVIII. S. 125.

Weichselbaum, A., *Wiener med. Jahrb.* 1886. — *Monatsschr. f. Ohrenheilk.* 1888. S. 200. — Ziegler's *Beiträge.* Bd. IV. S. 197. — *Fortschr. der Medicin.* 1887.

Wilde, M., Ueber den Bacillus pneumoniae Friedländer's und verwandte Bakterien. *Dissertation.* Bonn 1896.

Wolf, S., *Berliner klin. Wochenschrift.* 1896. S. 249.

Wolkowitsch, *Centralblatt für med. Wissenschaften.* 1886. Nr. 47.

Worburg, *Münchener med. Wochenschrift.* 1899. 18. Juli.

Wright und Mallory, *Diese Zeitschrift.* 1895. Bd. XX. S. 220.

Zagari, *Giorn. intern. delle Scienze Mediche.* 1889. Bd. XI. Nr. 4. Ref. B. J. 1889. S. 221.

Zaufal, *Prager med. Wochenschrift.* 1887. Nr 16.

[Aus dem staatlichen serotherapeutischen Institute in Wien.]
(Vorstand: Prof. R. Paltauf.)

Ueber Hemmung der Hämolyse durch Salze.

Von

K. K. Bezirksarzt Dr. **Markl**.

Nach den grundlegenden Arbeiten der Physiologen Hamburger, Gryns und Hedin hat sich Nolf[1] mit dem Studium des Mechanismus bei der Hämolyse eingehender beschäftigt.

Nolf experimentirte mit chemischen Substanzen, mit normalen hämolytischen Serumarten und mit hämolytischem Immunserum.

Die chemischen Substanzen theilt er in „non pénétrantes" und „pénétrantes"; die letzteren wieder in 2 Gruppen:

Die erste Gruppe der „pénétrantes" (Harnstoff z. B.) wirkt in jeder Concentration auf die Blutkörperchen wie gleiches Volumen destillirten Wassers; es gelingt, ihre Wirkung aufzuheben, indem man sie mit der isotonischen Dosis einer Substanz „non pénétrante" versetzt. Die hämolytische Wirkung der Körper der zweiten Gruppe (NH_4Cl z. B.) lässt sich durch Zusatz von isotonischen Salzen nicht aufheben.

Nach Hedin existirt noch eine Zwischengruppe von Substanzen, die sich in schwachen Lösungen wie die erste Gruppe, in concentrirten Lösungen wie die zweite Gruppe verhalten (Alkohol, Aether, Aceton).

Die hämolytische Wirkung des NH_4Cl kann man durch höhere Concentration des NaCl oder durch andere nicht penetrirende Substanzen (KNO_3, Zucker, Salze der alkalischen Erden) aufheben, während die hämolytische Wirkung der Gallensäure-Salze bei der Anwesenheit und mit zunehmender Concentration von NaCl, KNO_3, $BaCl_2$, $MgSO_4$ u. s. w. noch stärker wird.

[1] *Annales de l'Institut Pasteur.* 1900. Nr. 10.

Nolf schliesst aus diesen Thatsachen, dass die hämolytisch wirkenden chemischen Substanzen eine Hydratation der Zellen und ihrer Membran bewirken und die Permeabilität derselben für Hämoglobin herbeiführen.

Die hämolytische Wirkung der Normalsera erklärt Nolf auf dieselbe Art wie bei den chemischen Substanzen: Hydratation der Zellenmembran und Erhöhung ihrer Permeabilität für Hämoglobin. Von einer fermentativen Wirkung der Alexine auf die Blutkörperchen könne keine Rede sein, weil keine Producte der Fermentation nachweisbar seien. Höhere Concentration von Salzen (NaCl, KJ, KNO_3) hebt die hämolytische Wirkung der Alexine auf, indem sie die Permeabilität der Zellenmembran herabsetzt.

Die hämolytischen Immunsera wirken schliesslich nach Nolf dadurch, dass sie die Fixation der Alexine an den Zellen begünstigen.

Dieser Theorie ganz zuwiderlaufende Anschauungen vertritt Pohl.[1]

Pohl hat beobachtet, dass normales Serum die Blutkörperchen vor der doppelten bis vierfachen Giftdosis des Solanins schützt, und meint, dass diese Schutzwirkung nicht rein physikalischen Ursprunges sei, da Eiweiss oder 2 procentige Gummilösung sich gleich physiologischer NaCl-Lösung als indifferent erwiesen.

Durch Behandlung eines Kaninchens mit Solanin soll es Pohl gelungen sein, die hämolytische Wirkung des Serums um das Zehnfache zu steigern. Der schützende Körper fand sich auch in dem stark sauer reagirenden Harne vor, verschwand jedoch nach der Neutralisation, und Pohl behauptet, dass derselbe mit saurem phosphorsaurem Natron identisch sei, zumal es mit diesem Salze allein gelang, eine absolute Schutzwirkung gegenüber der 50fachen Giftdosis Solanins zu erreichen. Diese Schutzwirkung soll mit der Steigerung der molekularen Concentration der Lösung nichts zu thun haben, denn sie wird bei Zusatz von NaCl in gleicher Menge nicht erreicht. Sie hat ferner keine specifische Beziehung zum Phosphat, da auch saures Natriumsulfat eine homologe Schutzwirkung entfaltet.

Gegenüber Saponin erwies sich das saure Phosphat als unwirksam, und Pohl schliesst daraus, dass die Hämolyse bei diesem Gifte auf ganz anderer Ursache beruhen müsse als bei Solanin. Hingegen bewährte sich das saure Phosphat gegenüber dem Ichthyotoxin.

Pohl schliesst aus seinen Versuchen, dass die Gegenwart von saurem Phosphat das Eindringen des Giftes in die Erythrocyten verhindert, dass daher zwischen Toxin und Antitoxin keine chemische Beziehung zu bestehen braucht, sondern dass neben der Immunisirung durch chemische Neutra-

---

[1] *Archives internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie.* Vol. VII. Fasc. I u. II.

lisation des Giftes noch ein physikalischer Vorgang, welcher das Eindringen des Giftes in sonst empfindliche Zellen hindert, eine Art des Immunisirungsvorganges bilde.

Dieser Hypothese Pohl's widerspricht Bashford.[1] Er versuchte die Immunisirung von Kaninchen mit Solanin und Saponin, es gelang ihm aber nicht, ein Serum zu gewinnen, welches gegenüber diesen Giften eine höhere Schutzkraft hätte als das Normalserum. Die hämolytische Wirkung des Solanins kann man auch durch freie Säuren (Normal-HCl z. B.) aufheben, während Saponin, Cyclamin und Digitalin durch dieselben nicht beeinflusst werden.

Die toxische Kraft des Solaninhydrates wird durch Alkalien erhöht, durch Säuren und saure Salze verringert, bezw. aufgehoben, und Bashford schliesst daraus, dass auf die Erythrocyten nur freies Solanin, nicht aber die Solaninsalze schädlich wirken. Alkalien zersetzen die Solaninsalze und setzen die wirksame Basis in Freiheit, Säuren verhindern diese Zersetzung.

Bezüglich des Aalserums sagt Bashford, dass die hemmende Wirkung des Phosphates erst in einer 10procentigen Lösung statthat, also in einer Concentration, die sich von der Salzconcentration, welche im Blute vorkommen kann, so weit entfernt, dass von einer Beziehung dieser Befunde auf vitale Vorgänge gar keine Rede sein könne. Es folge hieraus, dass bei dem Immunserum die Annahme Pohl's, dass hier das saure Phosphat eine Rolle spielt, ohne jeden Anhalt ist.

Meine Versuche haben den Zweck verfolgt, festzustellen, ob saures phosphorsaures Natron die hämolytische Wirkung der normalen und Immunsera beeinflusst. Denn ist die Annahme Bashford's, dass die Anwesenheit von saurem Phosphat das Freiwerden der Solaninbase verhindert und dadurch die Erythrocyten vor Hämolyse schützt, richtig, dann dürfte das Phosphat auf Alexine und Immunkörper ohne jede Wirkung sein.

Diese Annahme hat sich jedoch nicht bestätigt. Die Anwesenheit von saurem Phosphat schützte die Erythrocyten vor der hämolytischen Wirkung sowohl des normalen als des Immunserums.

Zu den Versuchen wurde eine 5procentige Aufschwemmung von defibrinirtem Blut in isotonischer Kochsalzlösung und eine 10procentige Phosphatlösung benutzt.

[1] *Archives internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie.* Vol. VIII. Fasc. I u. II.

I. Versuch. Kaninchenblut, Katzenserum.

1 ccm Blut	+ 0·05 ccm Serum		totale Auflösung nach	48 St.
1 „ „	+ 0·1 „ „		„ „ „	24 „
1 „ „	+ 0·5 „ „		„ „ „	1/4 „
1 „ „	+ 1·0 „ Phosphat	+ 0·5 Ser.	keine „	
1 „ „	+ 0·5 „ „	+ 0·5 „	„ „	
1 „ „	+ 0·1 „ „	+ 0·5 „	Auflösung nach	24 St.

II. Versuch. Meerschweinchenblut, Katzenserum.

1 ccm Blut	+ 0·05 ccm Serum		totale Auflösung nach	48 St.
1 „ „	+ 0·1 „ „		„ „ „	20 Min.
1 „ „	+ 0·5 „ „		„ „ „	10 „
1 „ „	+ 1 ccm Phosphat	+ 0·5 ccm Ser.	keine „ „	24 St.
1 „ „	+ 0·5 ccm „	+ 0·5 „ „	partielle „ „	24 „
1 „ „	+ 0·1 „ „	+ 0·5 „ „	totale „ „	24 „

III. Versuch. Hammelblut, Immunserum (von mit Hammelblut behandelter Ziege).

1 ccm Blut	+ 0·1 ccm Serum		keine Auflösung nach	24 St.
1 „ „	+ 0·2 „ „		partielle „ „	24 „
1 „ „	+ 0·5 „ „		totale „ „	24 „
1 „ „	+ 1·0 „ „		„ „ „	1 „
1 „ „	+ 0·1 „ Phosphat	+ 1·0 ccm Ser.	partielle „ „	24 „
1 „ „	+ 0·2 „ „	+ 1·0 „ „	keine „ „	24 „
1 „ „	+ 0·5 „ „	+ 1·0 „ „	„ „ „	24 „
1 „ „	+ 1·0 „ „	+ 1·0 „ „	„ „ „	24 „

IV. Versuch. Hammelblut, Immunserum.

				Br.-T.
1 ccm Blut	+ 0·1 ccm Serum		keine Auflösung nach	2 St.
1 „ „	+ 0·2 „ „		totale „ „	2 „
1 „ „	+ 0·5 „ „		„ „ „	2 „
1 „ „	+ 1·0 „ „		„ „ „	2 „
1 „ „	+ 0·1 „ Phosphat	+ 1 ccm Ser.	partielle „ „	2 „
1 „ „	+ 0·2 „ „	+ 1 „ „	„ „ „	2 „
1 „ „	+ 0·5 „ „	+ 1 „ „	keine „ „	2 „
1 „ „	+ 1·0 „ „	+ 1 „ „	„ „ „	2 „

Aus diesen Versuchen ist zu entnehmen, dass die Wirkung der hämolytischen Sera nur bei einer bestimmten Proportion des Serums zum Blute eintritt und vice versa: dass die antihämolytische Wirkung des sauren Phosphates von einem bestimmten Verhältnisse zwischen diesem Salze zum Blut und Serum abhängig ist.

Diese Proportion kann man unter Zugrundenahme des unverdünnten Blutes und des krystallisirten Phosphates mit folgenden Zahlen ausdrücken:

	Blut		Serum		Phosphat	
I. Versuch	1	:	1			. . . . totale Auflösung
	1	:	10	:	0·2	. . . . partielle „
	1	:	10	:	1	. . . . keine „
II. Versuch	1	:	1			. . . . totale Auflösung
	1	:	10	:	1	. . . . partielle „
	1	:	10	:	2	. . . . keine „
III. Versuch	1	:	10			. . . . totale Auflösung
	1	:	20	:	0·2	. . . . partielle „
	1	:	20	:	0·4	. . . . keine „
IV. Versuch	1	:	4			. . . . totale Auflösung
	1	:	20	:	1	. . . . keine „

Es war also, um die 10fache Giftdosis des hämolytischen Serums unschädlich zu machen, in dem ersten Versuche (Kaninchenblut) 1 Theil, in den übrigen Versuchen (Meerschweinchen- und Hammelblut) je 2 Theile des sauren Phosphates erforderlich.

Geht man mit dem Zusatze von hämolytischem Serum über dieses Verhältniss hinaus, so tritt trotz der Gegenwart des sauren Phosphates die Hämolyse auf.

V. Versuch. Hammelblut, Immunserum.

1 ccm Blut + 0·1 ccm Serum	Auflösung
1 „ „ + 0·2 „ „	„
1 „ „ + 0·5 „ „	„
1 „ „ + 0·5 „ Phosphat + 0·1 ccm Serum .	keine Auflösung
1 „ „ + 0·5 „ „ + 0·2 „ „ .	Auflösung
1 „ „ + 0·5 „ „ + 0·5 „ „ .	„

Das Verhältniss zwischen Blut, Serum und Phosphat war in diesem Versuche das folgende:

Blut		Serum		Phosphat	
1	:	2			. . . . Auflösung
1	:	2	:	1	. . . . keine Auflösung
1	:	4	:	1	. . . . Auflösung

Die proportionelle Beziehung zwischen hämolytischem Serum und saurem Phosphat könnte den Anschein erwecken, dass das Phosphat im Stande ist, auf das hämolytische Gift direct einzuwirken, dasselbe in gewissem Verhältnisse zu binden und unschädlich zu machen. Dem ist aber nicht so.

Durch Ehrlich wissen wir, dass die hämolytische Wirkung des Immunserums durch 2 Compotenten bedingt ist: durch den Immunkörper und das Addiment.

Wenn die antihämolytische Wirkung des Phosphates durch eine Bindung des hämolytischen Serums bedingt wäre, so müsste sich diese Bindung entweder auf den Immunkörper oder auf das Addiment beziehen. Eine Bindung des Immunkörpers findet jedoch, wie folgender Versuch lehrt, nicht statt:

VI. Versuch.

Hammelblut, Immunserum mit und ohne Phosphatzusatz; nach 2 Stunden bei Brüttemperatur centrifugirt, der Bodensatz in isotonischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt, der klaren Flüssigkeit Hammelblut zugesetzt und beide mit 0·5 ccm normalem Ziegenserum versetzt und 2 Stunden bei Brüttemperatur stehen gelassen:

Ansatz		Ergebnis
1 ccm Blut + 0·5 ccm inact. I.-S. — Centrifugirt $<$	Bodensatz:	partielle Auflösung
	Flüssigkeit:	keine Auflösung
1 ccm Blut + 1 ccm Phosphat + 0·5 ccm inact. I.-S. $<$	Bodensatz:	partielle Auflösung
	Flüssigkeit:	keine Auflösung
1 ccm Blut + 0·5 ccm inact. I.-S.		keine Auflösung.

Desgleichen muss man eine Bindung des Addiments, wie folgender Versuch zeigt, ausschliessen:

VII. Versuch. (Hammelblut, inactivirtes Immunserum, normales Ziegenserum.)

Blut	Phosphat	inact. I.-S.	Norm.-S.	
1 ccm Blut		+ 0·2 ccm inact. I.-S.	+ 0·2 ccm Norm.-S.	totale Aufl.
1 „ „		+ 1·0 „ „ „		nichts
1 „ „			+ 1·0 „ „	„
1 „ „	+ 0·1 ccm Phosphat	+ 0·2 „ „ „	+ 0·2 „ „	„
1 „ „	+ 0·1 „ „	+ 1·0 „ „ „	+ 0·2 „ „	partielle Aufl.
1 „ „	+ 0·1 „ „	+ 0·2 „ „ „	+ 1·0 „ „	„ „

Es übt also das saure Phosphat weder auf den Immunkörper noch auf das Addiment eine specifische antihämolytische Wirkung aus.

Andererseits kann man sich überzeugen, dass saures Phosphat in ungenügender Concentration selbst vor destillirtem Wasser die Erythrocyten nicht zu schützen vermag; für Hammelblut z. B. ist erst eine 2 procentige Lösung isotonisch.

Ferner ist die Phosphatwirkung keine specifische; man kann sie nämlich durch andere Salze, selbst durch das Kochsalz ersetzen.

VIII. Versuch. Hammelblut in hypertonischer (5 procentiger) NaCl-Lösung. Immunserum.

Ansatz	Ergebnis
2 ccm Blut + 0·1 ccm Immunserum	keine Auflösung.
2 „ „ + 0·2 „ „	
2 „ „ + 0·5 „ „	
2 „ „ + 1·0 „ „	

Controlproben. Hammelblut in isotonischer (1 procentiger) NaCl-Lösung:

2 ccm Blut + 0·1 ccm	Immunserum . .	nichts
2 „ „ + 0·2 „	„ . .	minimale Auflösung
2 „ „ + 0·5 „	„ . .	totale „
2 „ „ + 1·0 „	„ . .	„ „

IX. Versuch. Hammelblut in isotonischer NaCl-Lösung, Immunserum, Zusatz von 10 Procent NaCl.

2 ccm Blut + 1·0 ccm	I.-S.	totale Auflösung
2 „ „ + 0·1 „	NaCl (10 Procent) + 1 ccm I.-S.	partielle „
2 „ „ + 0·2 „	„ (10 „) + 1 „ „	minimale „
2 „ „ + 0·5 „	„ (10 „) + 1 „ „	keine „

Durch einen zweiten Versuch, wo je 2 ccm Kochsalzlösungen steigender Concentration von 1, $1^1/_2$, 2 bis 5 Procent mit je 0·1 ccm Hammelblut und 1 ccm Immunserum versetzt worden waren, hat sich gezeigt, dass in Lösungen von 3 Procent NaCl angefangen keine Hämolyse eingetreten war.

Aber nicht nur die Salzconcentration, sondern noch andere Umstände, wie die Temperatur und die Concentration des Blutes, sind, wie schon Nolf zeigte, für das Zustandekommen der Hämolyse von Belang: höhere Temperatur und niedrigere Blutconcentration begünstigt die Hämolyse, und vice versa: niedrigere Temperatur und höhere Concentration des Blutes unterstützt die antihämolytische Wirkung des sauren Phosphates.

Alle diese Erscheinungen kann man aber nicht anders erklären, als dass das Phosphat die osmotischen Verhältnisse der Zellenmembranen der Erythrocyten derart beeinflusst, dass die Alexine nicht eingreifen können. Diese Erklärung deckt sich aber vollständig mit der physikalischen Theorie Nolf's.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Giessen.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. Gaffky.)

Ueber die Dauer der Lebensfähigkeit von Krankheitserregern in der Form feinster Tröpfchen und Stäubchen.

Von

Dr. med. **Fritz Kirstein,**
Assistenten des Instituts.

Einleitung.

In meiner Arbeit „Ueber die Dauer der Lebensfähigkeit der mit feinsten Tröpfchen verspritzten Mikroorganismen“[1] habe ich den Nachweis geführt, dass Prodigiosus- und Typhusbacillen, welche, mit feinsten Tröpfchen verspritzt, dem diffusen Tageslicht und der freien Luft ausgesetzt werden, innerhalb sehr kurzer Zeit, fast ausnahmslos schon innerhalb 24 Stunden, absterben.

In einer neuerdings erschienenen Arbeit von Hutchison[2] haben meine Untersuchungen über das Absterben der verspritzten Keime eine erfreuliche Bestätigung erfahren.

Hutchison fand nämlich, dass die in einem Zimmer versprühten Prodigiosuskeime bereits zwischen 2 und 5 Stunden nach der Ausstreuung eine grosse Abnahme erfahren hatten. Nach 8 Stunden waren sie nur vereinzelt nachzuweisen, während sie von 24 Stunden ab aufwärts noch spärlicher wurden, um bald ganz zu verschwinden.

[1] Fritz Kirstein, Ueber die Dauer der Lebensfähigkeit der mit feinsten Tröpfchen verspritzten Mikroorganismen. *Diese Zeitschrift.* 1900. Bd. XXXV.

[2] Hutchison, Die Verbreitung von Keimen durch gewöhnliche Luftströme. *Ebenda.* 1901. Bd. XXXVI.

Ferner bestätigten seine Versuche, dass die Haltbarkeit der verspritzten Prodigiosuskeime an den vor Licht geschützten Stellen eine grössere ist. Auf den vor Licht geschützten Platten liess sich Prodigiosus bis zum 7. Tage nach der Versprühung feststellen, dagegen waren die Keime bei freier Lichtwirkung zwischen dem ersten und zweiten Tage abgestorben.

Die Resultate stimmen also mit den meinigen, soweit es sich um Versuche in einem goschlossenen Zimmer handelt, vollkommen überein.

Betreffs der Lebensdauer der nur mit allerfeinsten Tröpfchen verspritzten Mikroorganismen hat Hutchison keine Versuche angestellt.

Die von mir des Weiteren mit Rosahefe angestellten Verspritzungsversuche haben ergeben, dass diese Mikroorganismen den schädlichen Einwirkungen von Licht und Luft länger Trotz bieten können und zwar wenigstens 10 bis 14 Tage lang.

Am Schlusse meiner oben citirten Arbeit habe ich auf Grund der mit den beiden Bakterienarten gewonnenen Versuchsresultate der Annahme Ausdruck gegeben, dass die sporenfreien Bakterien im Zustande feinster Vertheilung, wie sie insbesondere durch Verspritzung keimhaltiger Tröpfchen zu Stande kommt, bei unmittelbarer Einwirkung von Licht und Luft verhältnissmässig kurze Zeit sich lebensfähig erhalten.

Ich machte jedoch schon damals darauf aufmerksam, dass für die einzelnen Mikroorganismen wahrscheinlich gewisse graduelle Unterschiede sich finden würden.

Die Versuche sind zunächst mit Diphtherie- und Tuberkelbacillen fortgesetzt worden.

Der Tuberkelbacillus beansprucht naturgemäss ein erhöhtes Interesse, da ja gerade bei den zahlreichen an Lungentuberculose leidenden Kranken mehr als bei irgend einer anderen Infectionskrankheit die Gefahr einer Uebertragung durch die beim Husten und Sprechen verspritzten bacillenhaltigen Tröpfchen besonders nahe gerückt ist.

Die mit tuberculösem Sputum angestellten Verspritzungsversuche galten der Beantwortung der Frage, wie lange nach der Ausstreuung bezw. dem Absitzen tuberkelbacillenhaltiger Tröpfchen eine Infectionsgefahr für die Umgebung besteht. Welche Bedeutung dieser Frage für die Erkenntniss von der Verbreitungsmöglichkeit der Tuberculose beizumessen ist, liegt auf der Hand. Deshalb möchte ich, wie ich dies schon in der ersten Veröffentlichung gethan, nochmals mit Nachdruck betonen, dass die Versuche mit den übrigen, theils saprophytischen, theils pathogenen Mikroorganismen in erster Linie der klareren Beurtheilung des in Rede stehenden Verhaltens der Tuberkelbacillen dienen sollten.

Die Experimente wurden aber nun ausser den genannten noch auf andere sporenfreie pathogene Mikroorganismen ausgedehnt, so auf Geflügelcholerabakterien, auf Staphylokokken und Streptokokken. Endlich wurden auch Bacillensporen, und zwar Milzbrandsporen, die mit feinsten Tröpfchen verspritzt waren, auf die Dauer ihrer Lebensfähigkeit hin geprüft.

Die Ergebnisse dieser Versuche gaben noch des Weiteren Veranlassung zu Versuchen über die Lebensdauer der Keime in der Form feinster **Stäubchen.**

Es sollte so die Grundlage gewonnen werden für die Beurtheilung der Dauer der Lebensfähigkeit der Tuberkelbacillen in der Form feinster, aus eingetrocknetem tuberculösen Lungenauswurf hervorgegangenen Stäubchen.

Die Versuche wurden in verschiedenen Modificationen mit Prodigiosus vorgenommen, ferner auch mit Staphylococcus pyogenes aureus. Leider konnten aus äusseren Gründen Versuche mit tuberculösem Sputum selbst nicht vorgenommen werden.

I. Abschnitt.

Ueber die Dauer der Lebensfähigkeit von mit feinsten Tröpfchen verspritzten Krankheitserregern.

Die Verspritzungsversuche mit den oben angeführten pathogenen Bakterien wurden unter Zuhülfenahme des schon in der ersten Veröffentlichung beschriebenen Apparates vorgenommen. Derselbe ermöglichte die Gewinnung von nur allerfeinsten keimhaltigen Tröpfchen bei absoluter Sicherheit vor einer die Umgebung gefährdenden Verstreuung von Keimen. Um eine Wiederholung zu vermeiden, möchte ich bezüglich des Apparates nur noch Folgendes bemerken: Wie aus der ersten Veröffentlichung ersichtlich, gelangten bei den Verspritzungen nur in die hintere Abtheilung des Apparates die allerfeinsten keimhaltigen Tröpfchen. In dieser hinteren Abtheilung wurde dem Keimregen ein pultartiges Gestell exponirt, auf dem sich 20 bis 24 kleine leere sterile Schälchen von einem Durchmesser von 5 bis 6 ^{cm} befanden. Nur das in der Mitte des Gestelles befindliche Schälchen war mit Nährmaterial versehen, um die Zahl der niedergefallenen Keime feststellen zu können.

Ausser den Schälchen wurden in einigen Versuchen noch Deckgläschen auf dem Gestell exponirt, um die Keimvertheilung im gefärbten Präparat beobachten zu können.

Es gelangten wechselnde Mengen der Aufschwemmflüssigkeiten bezw. der Bouillonculturen zur Verspritzung. Die Aufschwemmungen bezw. die

Bouillonculturen waren durch ein steriles Asbestfilter filtrirt, um grössere Bacillenhäufchen von der Versprayung fern zu halten. Die Verspritzung selbst wurde in langsamem Tempo vorgenommen. Dabei wurde gleichzeitig ein bestimmtes Luftquantum durch den Apparat hindurchgesaugt. Für die meisten Versuche betrug die Dauer der Verspritzung 15 Minuten, während welcher Zeit 180 Liter Luft abgesaugt wurden. In der Minute wurden demnach 12 Liter Luft durch den Apparat hindurchgesaugt.

Um von den wirksamen Luftgeschwindigkeiten eine Vorstellung zu bekommen, hat man sich zu vergegenwärtigen, dass bei continuirlicher Verspritzung die vorderste Abtheilung des Apparates mit Keimtröpfchen angefüllt wird und dass von hier aus die eigentliche Absaugung der feinsten Tröpfchen erfolgt. Es interessirt deshalb in erster Linie, welche Geschwindigkeiten die Schrägaufwärtsbewegung der feinsten Tröpfchen in der mittleren Abtheilung des Kastens vermitteln.

Die folgende Berechnung ist angestellt für den kleinsten hier in Betracht kommenden Querschnitt und wird an der Hand der Fig. 1 leicht verständlich.

Fig. 1.

Da $\frac{30}{\sqrt{30^2 + 42^2}} = \frac{x}{8}$, folgt x (Projection) = ca. 5^{cm}.

In 60 Secunden werden 12 Liter Luft abgesaugt, demnach werden in 70 Secunden die in $52^{\text{cm}} \times 52^{\text{cm}} \times 5^{\text{cm}}$ enthaltenen 13 Liter Luft abgesaugt. Nun legt ein in die mittlere Abtheilung des Apparates eintretendes Luftheilchen bezw. Keimtröpfchen im günstigsten Fall in 70 Secunden die Weglänge von 52^{cm} zurück. Es wird demnach in 1 Secunde um rund $7 \cdot 5^{\text{mm}}$ vorwärts bewegt. Diese Geschwindigkeit ist die grösste, mit welcher überhaupt die feinsten Tröpfchen in dem Apparate weitertransportirt werden können.

Im Uebrigen kommen wegen der Zunahme des Querschnittes nur noch kleinere Luftgeschwindigkeiten, deren Werthe bis auf einen Bruchtheil eines Millimeters sinken, in Betracht. Durch die in der mittleren Abtheilung nothwendiger Weise auftretenden Wirbelbildungen wird die denkbar maximale Luftgeschwindigkeit überhaupt in Wirklichkeit nicht

vorhanden sein, sondern es werden im Grossen und Ganzen ähnliche Werthe für den Transport der feinsten keimhaltigen Tröpfchen vorliegen, wie sie gewöhnlich im Innern von Wohnräumen vorkommen, nämlich Geschwindigkeiten von 1 bis 4 ^{mm} pro Secunde. Dass feinste Tröpfchen und Stäubchen unter diesen Umständen fortbewegt werden können, hat Flügge[1] schon eingehend dargelegt und wird durch die vorliegenden Versuche nur bestätigt.

Die dem Keimregen exponirten Schälchen wurden meist 1 Stunde nach Beendigung der Versprayung aus dem Kasten entfernt, unter Innehaltung der schon früher erwähnten Vorsichtsmassregeln. Die naturgemäss ebenfalls mit Bakterien behafteten Aussenseiten der leeren Schälchen und des mit Nährmaterial versehenen Controlschälchens wurden mit einem in Sublimatlösung getränkten Wattebausch vorsichtig abgewischt und bei Seite gestellt. Das Controlschälchen kam in den Brütschrank bei 37° C., die besprühten Schälchen, mit dem Boden nach oben, auf ein weitmaschiges, mit Stützen versehenes Drahtgeflecht, so dass die Luft ungehindert von unten her einwirken konnte, aber eine Verunreinigung durch Luftkeime dabei fast völlig vermieden war.

Das ausschliesslich für die Anstellung der Zerstäubungsversuche benutzte Laboratorium war durch einen das Fenster bedeckenden Vorhang aus Pausleinwand vor directer Sonnenbestrahlung geschützt.

Die inficirten Geräthschaften wurden theils mit Sublimatlösung, theils durch Auskochen desinficirt. Der ganze Kasten selbst konnte leicht einer Desinfection mit strömendem Wasserdampf unterworfen werden.

Die ausserhalb des Apparates aufgestellten Schälchen wurden nun in angemessenen Zeitintervallen mit einer dünnen Schicht eines geeigneten Nährsubstrates versehen und darauf in den Brütschrank bei 37° C. gestellt.

Die Colonieen wurden entweder mit der Lupe oder dem Mikroskope gezählt. Zweifelhafte Colonieen wurden abgestochen und in der üblichen Weise weiter untersucht.

Da sich schon bei den Verspritzungsversuchen mit Typhusbacillen ein zuweilen zu Tage tretender Unterschied in dem Zeitpunkte des Absterbens bei den einzelnen Versuchen zum Theil auf Ungleichheiten in der Helligkeit zurückführen liess, wurde im Folgenden noch genauer auf diesen Punkt geachtet und soweit es sich um Mikroorganismen handelte, die innerhalb verhältnissmässig sehr kurzer Zeit nach ihrer Versprayung absterben, jedes Mal ein kurzer Vermerk über die herrschenden Witterungsverhältnisse gemacht.

[1] Flügge, Ueber Luftinfection. *Diese Zeitschrift.* 1897. Bd. XXV.

Da bezüglich der Dauer der Einwirkung der diffusen Tagesbeleuchtung der Zeitpunkt der Beendigung der Verspritzung von Interesse ist, möchte ich generell bemerken, dass die Versuche der Art eingerichtet wurden, dass etwa um 10 Uhr Vormittags die Verspritzung beendet war.

Versuche mit Diphtheriebacillen.

Die zu den folgenden Versuchen verwendete Cultur war frisch aus einer Diphtheriemembran eines verstorbenen einjährigen Kindes gezüchtet. Ueber die Virulenz dieses Diphtheriebacillenstammes ist zu sagen, dass $^1/_2$ ccm einer 24 stündigen Bouilloncultur ein mittelschweres Meerschweinchen am 4. Tage tödtete.

Was nun im Einzelnen die im September und Oktober 1900 vorgenommenen Verspritzungsversuche mit Diphtheriebacillen angeht, so wurden bei den 5 ersten Versuchen je fünfzehn 48 stündige Serumröhrchen mit 60 ccm sterilen Wassers bezw. steriler physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt und ein bestimmtes aus der nachstehenden Tabelle ersichtliches Quantum der filtrirten Flüssigkeit versprayt.

Bei den 3 ersten Versuchen wurden die Untersuchungen der Schälchen auf das Vorhandensein noch lebender Keime mit Glycerinagar vorgenommen. Bei den Versuchen Nr. 3, 4 und 5 wurden die Schälchen ausser mit Glycerin-Agar nach Ablauf der ersten 20 Stunden auch noch mit flüssigem Löffler'schen Blutserum daraufhin untersucht, ob überhaupt noch lebende Diphtheriekeime nachweisbar wären.

Die Prüfung geschah so, dass jedes Mal ein Schälchen mit flüssigem Blutserum ausgespült wurde. Die Spülflüssigkeit wurde wieder zurück in das Reagensglas gegossen und dasselbe darauf in den Brütschrank bei 37° C. gestellt.

Ueber den Verlauf der 5 ersten Versuche mit Diphtheriebacillen giebt die folgende Tabelle (Tabelle I) Aufschluss.

Für die Versuche Nr. 1 und 2 konnte die Colonieenzahl auf dem Controlschälchen nicht angegeben werden, da auf der Oberfläche der mit Glycerin-Agar versehenen Controlschälchen keine bezw. nur vereinzelte Diphtheriecolonieen zur Entwickelung kamen, obwohl doch reichlich Diphtheriebacillen, wie die späteren Untersuchungen zeigten, in die hintere Abtheilung des Apparates gelangt sein mussten.

Bei dem 3. Versuche wurde daher neben einem mit Glycerin-Agar versehenen Schälchen noch ein mit Löffler'schem Serum beschicktes Schälchen zum Vergleich in den Apparat eingestellt. Dabei zeigte sich, dass auf dem Controlserumschälchen ca. 20 000 Diphtheriecolonieen entstanden, dass dagegen auf dem Control-Glycerin-Agarschälchen nur ganz wenige Colonieen (ca. 100 Colonieen) sichtbar wurden.

Tabelle I. **Versuche mit Aufschwemmungen von Serumculturen von Diphtheriebacillen.**

Versuch Nr. 1.			Versuch Nr. 2.			Versuch Nr. 3.			Versuch Nr. 4.			Versuch Nr. 5.		
Trüber Tag. 30 ccm einer wässerig. Aufschwemmung verspritzt. Zahl der lebend niedergefallenen Keime nicht anzugeben, da auf den Control-Glycerin-Agarschälchen keine Diphth.-Colonie zur Entwickelung kam.			Trüber Tag. 50 ccm einer wässer. Aufschwemmung verspritzt. Zahl der lebend niedergefallenen Diphtheriekeime nicht annähernd anzugeben, da auf dem Control-Glycerin-Agarschälchen nur ca. 50 Colonieen zur Entwickelung kamen.			Theilweise bewölkter Himmel. 40 ccm einer Aufschwemmung in physiolog. Kochsalzlösung verspritzt. Colonieenzahl auf dem Control-Serumschälchen nach 24 Std. bei 37° C. ca. **20000**			Trüber Tag. 40 ccm einer Aufschwemmung in physiolog. Kochsalzlösung verspritzt. Colonieenzahl auf dem Control-Serumschälchen nach 24 Std. bei 37° C. ca. **30000**			Theilweise bewölkter Himmel. 50 ccm einer Aufschwemmung in physiolog. Kochsalzlösung verspritzt. Colonieenzahl auf dem Control-Serumschälchen nach 24 Std. bei 37° C. ca. **32000**		
Zeiten nach der Verspritzung	Resultat	Zahl der Diphther.-colonieen	Zeiten nach der Verspritzung	Resultat	Zahl der Diphther.-colonieen	Zeiten nach der Verspritzung	Resultat	Zahl der Diphther.-colonieen	Zeiten nach der Verspritzung	Resultat	Zahl der Diphther.-colonieen	Zeiten nach der Verspritzung	Resultat	Zahl der Diphther.-colonieen
1 Stunde	+	ca. 1000	1 Stunde	+	ca. 9000	1 Stunde	+	ca. 8500	1 Stunde	+	ca. 6250	1 Stunde	+	ca. 6400
3 Stunden	+	ca. 400	3 Stunden	+	ca. 300	2 „	+	ca. 4000	2 Stunden	+	ca. 2000	3 Stunden	+	ca. 7500
5 „	+	ca. 60	5 „	+	2	4 „	+	ca. 1800	4 „	+	ca. 200	5 „	+	ca. 2500
7 „	+	1	6 „	+	48	5 „	+	ca. 1200	5 „	+	ca. 120	6 „	+	ca. 1200
23 „	—	—	8 „	+	2	6 „	+	ca. 1500	6 „	+	ca. 100	7 „	+	ca. 1800
28 „	—	—	11 „	—	—	7 „	—	—	7 „	+	ca. 120	11 „	verunglückt	
31 „	—	—	21 „	+	1	8 „	—	—	8 „	+	ca. 150	23 „	—*	—*
Weitere Untersuchungen	—	—	24 „	—	—	21 „	+	2	11 „	+	ca. 130	25 „	—	—
			30 „	—	—	24 „	—*	—*	21 „	+	25	27 „	—	—
			Weitere Untersuchungen	—	—	30 „	—	—	24 „	+	6	30 „	—*	—*
						38 „	—	—	26 „	—*	—*	36 „	—	—
						Weitere Untersuchungen	—	—	37 „	—*	—*	45 „	—	—
									45 „	—	—	Weitere Untersuchungen	—	—
									Weitere Untersuchungen	—	—			

+ = positives Resultat, — = negatives Resultat, * = Prüfung mit flüssigem Löffler'schen Blutserum noch positiv.

Vielleicht hinderte eine den Nährboden bedeckende Presswasserschicht die auffallenden Keime am Haften an der eigentlichen Nährfläche.

Aus der Tabelle geht hervor, dass für die Untersuchung der Schälchen mit Glycerin-Agar schon nach den ersten Stunden nur noch verhältnissmässig wenig Diphtheriebacillen nachweisbar waren und dass innerhalb der ersten 24 Stunden in 4 von 5 Versuchen sämmtliche Diphtheriebacillen für die Untersuchung mit Glycerin-Agar verschwunden waren.

Dabei liess sich kein Unterschied hinsichtlich der Art der Aufschwemmung, ob in sterilem Wasser oder in physiologischer Kochsalzlösung feststellen. Anders verhielt es sich allerdings für die Prüfung mit flüssigem Löffler'schen Blutserum. Hierbei wurde noch nach 37 Stunden ein positives Resultat erzielt.

Es zeigte sich also hier deutlich, dass bei Heranziehung eines besseren Nährbodens noch ein positiver Befund constatirt werden kann, wo bei Anwendung eines weniger günstigen Nährmediums ein negatives Resultat verzeichnet wird.

Da es nun bei Anwendung von flüssigem Serum nicht möglich ist, die Keimabnahme zahlenmässig zu verfolgen, sah ich mich nach einem für das Wachsthum der Diphtheriebacillen wenigstens ebenso günstigen Nährboden um, der jedoch die nothwendige Erstarrungsfähigkeit besass. Ich fand denselben in dem Nutroseserum-Agar von A. Wassermann.[1] Durch den Zusatz von Nutrose (Caseïn-Natrium-Phosphat) zu verdünntem Serum wird es nämlich ermöglicht, dasselbe auf 100° C. zu erhitzen, ohne dass Gerinnung eintritt. Die sonst bei höheren Temperaturen stattfindende Coagulation des Serumalbumins wird verhindert. Wassermann empfahl speciell für die Züchtung der Gonokokken die Anwendung von Schweineserum. Für die Prüfung auf Diphtheriebacillen erschien mir die Verwendung von Rinderserum geeigneter. Ausserdem setzte ich dem Serumgemisch noch eine geringe Menge Traubenzucker hinzu.

Der Nährboden wurde demnach folgendermaassen bereitet: In einem Erlenmeyer-Kölbchen wurden 15 ^{ccm} möglichst hämoglobinfreies Rinderserum, 35 ^{ccm} Wasser, 3 ^{ccm} Glycerin, 0·9 ^{grm} Nutrose und 0·1 ^{grm} Traubenzucker unter stetem Schütteln über der freien Flamme zum Kochen erhitzt. Darauf wurde die Lösung in Reagensgläschen abgefüllt und im Dampfkochtopf endgültig sterilisirt. Diese Lösung konnte nun jeder Zeit zur Herstellung eines geeigneten erstarrungsfähigen Nährbodens verwendet werden.

[1] A. Wassermann, Weitere Mittheilungen über Gonokokkencultur und Gonokokkengift. *Diese Zeitschrift.* 1898. Bd. XXVII.

Zu dem Zwecke wurden gleiche Mengen der Serumflüssigkeit mit 2 Procent Pepton enthaltenden Agarröhrchen (2 Procent Agar-Agar) bei ca. 50° C. gemischt und dann ausgegossen.

Mit diesem Nutroseserum-Agar habe ich die Untersuchungen bei den folgenden Verspritzungsversuchen mit Diphtheriebacillen vorgenommen und es zeigte sich, wie aus der folgenden Tabelle II ersichtlich, dass der Nährboden nicht hinter dem flüssigen Löffler'schen Serum zurückstand. Denn sobald unter dem Nutroseserum-Agar keine Diphtheriecolonie mehr aufspriesste, war auch der Nachweis von Diphtheriebacillen mit flüssigem Löffler'schen Serum nicht mehr zu erbringen.

Ich möchte beiläufig erwähnen, dass es wegen der raschen Verdunstung des Serum-Agars empfehlenswerth ist, den Boden des Schälchens nicht zu spärlich mit dem Serumgemisch zu bedecken.

In dem Versuch Nr. 6 wurden die Prüfungen der Schälchen ausser mit Nutroseserum-Agar gleichzeitig mit Glycerin-Agar vorgenommen.

Um den Einfluss mangelnder Belichtung auf das Absterben der mit feinsten Tröpfchen verspritzten Diphtheriebacillen zu verfolgen, wurden im Versuch Nr. 7 nach der Verspritzung die Hälfte der exponirten Schälchen in einem Keller umgekehrt auf ein mit Stützen versehenes Drahtgeflecht gestellt, während die andere Hälfte im Laboratorium unter den gewöhnlichen Bedingungen verblieb.

Was die Helligkeit an der Stelle des Kellers anlangt, an welcher die Schälchen aufgestellt waren, so ist zu bemerken, dass man hier an hellen, sonnigen Tagen, wenn auch mit Mühe, eine Zeitung lesen konnte. Bei Abwesenheit von Sonnenschein konnte jedoch nur grosser Druck gelesen werden. Während der Versuchsdauer waren im Allgemeinen heitere Tage vorherrschend.

Die mittlere relative Feuchtigkeit betrug während der Versuchsdauer im Keller, mit dem August'schen Psychrometer bestimmt, 85·77 Procent, das Sättigungsdeficit 1·35 ^{grm}. Die Kellertemperatur betrug durchschnittlich 10·2° C.

Im Gegensatz dazu fanden sich in dem der Tagesbelichtung zugänglichen Laboratorium, in welchem der andere Theil der Schälchen aufgestellt war, folgende Werthe. Die relative Feuchtigkeit betrug 59·2 Procent, das Sättigungsdeficit 6·36 ^{grm} und die Temperatur 18·3° C. Die Untersuchungen der Schälchen wurden bei dem Parallelversuche ausschliesslich mit Nutroseserum-Agar angestellt.

Die Abhängigkeit in der Dauer der Lebensfähigkeit der versprühten Diphtheriebacillen von den angegebenen physikalischen Factoren zeigt evident die folgende Tabelle. In einem letzten Versuche mit Diphtheriebacillen (Versuch Nr. 8) wurde die Aufschwemmung mit sterilem mensch-

lichen Speichel bewerkstelligt. Derselbe wurde in einem gut verschliessbaren Gefässe über Chloroform aufgefangen, mit letzterem des Oefteren geschüttelt und 8 Tage bei kühler Temperatur dem Chloroform ausgesetzt. Nachdem derselbe sich bei einer Controlaussaat als steril erwiesen hatte, wurden mit demselben die Diphtherieculturen von einer Reihe von Serumröhrchen abgeschwemmt. Das Ganze wurde darauf tüchtig geschüttelt und durch sterile Glaswolle mit Hülfe einer Saugflasche filtrirt.

Ein Versuch mit einer Diphtheriebacillenaufschwemmung in Speichel wurde deshalb vorgenommen, um zu constatiren, ob die mitverspritzten feinsten Speicheltröpfchen einen conservirenden Einfluss auf die Diphtheriebacillen ausüben würden. Die Untersuchung der Schälchen wurde wieder ausschliesslich mit Nutroseserum-Agar vorgenommen.

In den 3 letzten Versuchen wurden grössere Mengen von Diphtheriebacillen verspritzt. Es wurden nämlich jedes Mal dreissig 24 stündige Serumröhrchen mit 80 ccm sterilen Wassers bezw. sterilen Speichels aufgeschwemmt. Davon wurden 60 ccm innerhalb 25 Minuten unter gleichzeitigem Absaugen von 300 Liter Luft versprayt. Ueber den Ausfall dieser 3 Versuche giebt die folgende Tabelle II näheren Aufschluss.

Bevor ich auf die Beurtheilung der Versuchsergebnisse näher eingehe, möchte ich zunächst die Resultate mittheilen, die sich auf die Dauer der Lebensfähigkeit der Diphtheriebacillen unter anderen Verhältnissen beziehen.

Schon bei den mit Prodigiosus- und Typhusbacillen angestellten Versuchen wurden in den zu den Verspritzungen verwendeten Aufschwemmungen bezw. Bouillonculturen gleichzeitig Seidenfäden und Leinwandstückchen getränkt. Es konnte damals ein eclatanter, Wochen und Monate betragender Unterschied hinsichtlich der Haltbarkeit der Keime constatirt werden.

Damals wurden auch Aufschwemmungen von Prodigiosus- und Typhusbacillen selbst in mit Wattebausch und Gummikappen versehenen Reagensgläsern im Laboratorium am zerstreuten Tageslicht aufbewahrt. Von Zeit zu Zeit wurden nun diese Aufschwemmungen auf das Vorhandensein noch lebender Keime hin untersucht. Zur Zeit der ersten Veröffentlichung war von einem Absterben der Keime unter den angegebenen Bedingungen noch keine Rede, weshalb ich damals noch keine Notiz brachte. Das Ergebniss dieser Versuche soll deshalb an dieser Stelle nachgetragen werden.

Was zunächst die Lebensdauer der Prodigiosuskeime in einer zu den Verspritzungsversuchen benutzten Prodigiosusaufschwemmung (die Prodigiosusaufschwemmung war durch Suspension einer 3 Tage alten Kartoffelcultur in 100 ccm sterilen Wassers gewonnen und dann durch sterile Glaswolle filtrirt worden) angeht, so betrug dieselbe rund 9 Monate.

Tabelle II. **Versuche mit Aufschwemmungen von Serumculturen von Diphtheriebacillen.** (Fortsetzung.)

Versuch Nr. 6. Unbewölkter Himmel. Aufschwemmung der Diphtheriebacillen in sterilem Wasser. Colonieenzahl auf dem mit Nutroseserum-Agar versehenen Controlschälchen nach 24 Stunden bei 37° C. ca. 125 000					Versuch Nr. 7. Theilweise bewölkter Himmel. Aufschwemmung der Diphtheriebacillen mit sterilem Wasser. Colonieenzahl auf dem mit Nutroseserum-Agar versehenen Controlschälchen nach 24 Stunden bei 37° C. ca. 150 000						Versuch Nr. 8. Theilweise bewölkter Himmel. Aufschwemmung der Diphtheriebacillen in sterilem Speichel. Colonieenzahl auf dem mit Nutroseserum-Agar versehenen Controlschälchen nach 24 Stunden bei 37° C. ca. 125 000		
Untersuchungen mit Nutroseserum-Agar			Untersuchungen mit Glycerin-Agar		Schälchen im Laboratorium aufbewahrt			Schälchen im Keller aufbewahrt					
Zeiten nach der Verspritzung	Resultat	Zahl der Diphtheriecolonieen	Resultat	Zahl der Diphtheriecolonieen	Zeiten nach der Verspritzung	Resultat	Zahl der Diphtheriecolonieen	Zeiten nach der Verspritzung	Resultat	Zahl der Diphtheriecolonieen	Zeiten nach der Verspritzung	Resultat	Zahl der Diphtheriecolonieen
1 Stunde	+	ca. 38000	+	ca. 9500	1 Stunde	+	ca. 70000	∽	∽	∽	1 Stunde	+	ca. 45000
3 Stunden	+	ca. 600	∽	∽	4 Stunden	+	ca. 40000	4 Stunden	+	ca. 40000	4 Stunden	+	ca. 30000
4 „	+	ca. 180*	∽	∽	6 „	+	ca. 30000	∽	∽	∽	8 „	+	ca. 10000
6 „	+	ca. 1200	+	ca. 150	7 „	+	ca. 30000	7 Stunden	+	ca. 38000	12 „	+	ca. 6000
7 „	+	ca. 300	—	—	12 „	+	ca. 10000	∽	∽	∽	22 „	+	ca. 1500
12 „	+	ca. 120	—	—	22 „	+	ca. 2400	∽	∽	∽	28 „	+	ca. 400
22 „	+	30	—	—	28 „	+	ca. 1800	28 Stund.	+	ca. 35000	35 „	+	ca. 50
24 „	+	7	Weitere Untersuchungen	—	46 „	+	ca. 400	46 „	+	⊽	48 „	+	8
27 „	+	2			55 „	—	—	55 „	+	⊽	55 „	—	—
32 „	+	1			70 „	—	—	70 „	+	ca. 5500	70 „	—	—
35 „	+	2			Weitere Untersuchungen	—	—	80 „	+	ca. 2500	Weitere Untersuchungen	—	—
48 „	—	—						130 „	+	ca. 200			
55 „	—	—						150 „	—	—			
Weitere Untersuchungen	—	—						Weitere Untersuchungen	—	—			

+ = positives Resultat, — = negatives Resultat, * = die Mitte des Schälchens war von dem Serumgemisch nicht bedeckt.
∽ = keine Untersuchung vorgenommen, ⊽ = Schälchen zum grossen Theil überwuchert.

Eine dichtere Aufschwemmung von Prodigiosus, die Ende Mai 1900 durch Suspension einer 4 Tage alten Kartoffelcultur in 30 ccm Wasser hergestellt wurde und seit dieser Zeit ebenfalls dem diffusen Tageslicht ausgesetzt blieb, giebt jetzt noch, Mitte Juni 1901, eine ziemlich reichliche Aussaat von Prodigiosuscolonieen auf Kartoffeln.

In analoger Weise wurde auch die Lebensdauer von Typhusbacillen in verschiedenen flüssigen Medien, nämlich in sterilem Leitungswasser, steriler physiologischer (0·85 procent.) Kochsalzlösung und steril aufgefangenem menschlichen Urin (vgl. die erste Veröffentlichung) verfolgt. Auf je 90 ccm dieser Flüssigkeiten kamen jedes Mal zwölf 10 stündige Agarschrägculturen. Die Aufschwemmungen wurden zwecks Entfernung grösserer Partikel noch durch sterile Glaswolle filtrirt. Um ein Urtheil über die Zahl der in den Aufschwemmungen befindlichen Typhusbacillen zu gewinnen, wurden je 2 mg der Suspensionen zu einer Gelatineplatte verarbeitet. Aus den zur Entwickelung gelangten Typhuscolonieen berechnete sich die Keimzahl auf etwa 2 000 000 pro 1 mg der Aufschwemmung. Die mit den drei verschiedenen Aufschwemmungen versehenen Reagensgläser blieben im Laboratorium von Mitte Mai 1900 ab dem diffusen Tageslicht ausgesetzt.

Von Zeit zu Zeit wurden 2 Oesen der Aufschwemmungen in je ein Bouillonröhrchen übertragen. Die trübe gewordenen Bouillonröhrchen wurden durch Ansetzen von Gelatineplatten weiterhin auf die Anwesenheit von Typhusbacillen geprüft.

Es wurde auf diese Weise ermittelt, dass die in physiologischer Kochsalzlösung vorgenommenen Suspensionen ungefähr 9 Monate, die beiden anderen in sterilem Leitungswasser und sterilem Urin vorgenommenen Aufschwemmungen sogar jetzt noch, nach einem Jahre, lebensfähige Typhusbacillen enthielten.

Ueber eine grosse Widerstandsfähigkeit der Typhusbacillen in flüssigen Medien und im Boden wird von verschiedenen Autoren berichtet.

Nach Petri,[1] Loesener[2] und Karlinski[3] bewahren die Typhusbacillen im Boden ihre Lebensfähigkeit über 3 Monate und noch länger.

[1] Petri, Versuche über das Verhalten der Bakterien des Milzbrandes, der Cholera, des Typhus und der Tuberculose in beerdigten Thierleichen. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1891. Bd. VII.

[2] Loesener, Ueber das Verhalten von pathogenen Bakterien in beerdigten Cadavern und über die dem Erdreich und Grundwasser von solchen Gräbern angeblich drohenden Gefahren. *Ebenda.* 1896. Bd. XII.

[3] Karlinski, Untersuchungen über das Verhalten von Typhusbacillen im Boden. *Archiv für Hygiene.* Bd. XIII.

Sidney Martin[1] fand sogar, dass der Typhusbacillus in sterilisirten Bodenproben, welche von bebauten Ländereien stammten und vor Austrocknen geschützt wurden, 456 Tage lebensfähig blieb.

Auf dem letzten internationalen Congress für Hygiene und Demographie in Paris berichtete v. Fodor[2] über das Verhalten der Typhusbacillen in äusseren Medien, wobei er hervorhob, dass er Typhusbacillen in Wasser länger als 118 Tage lebend und im Boden sogar bis zu 300 Tagen lebensfähig angetroffen hätte.

Die relativ lange Lebensfähigkeit der Typhusbacillen in sterilisirten Wasser- und Bodenproben macht es bis zu einem gewissen Grade verständlich, weshalb das Auftreten von Typhusepidemieen über Jahre hinaus oft an ganz bestimmte Oertlichkeiten gebunden ist.

Zum Zustandekommen dieser Verhältnisse müssen jedenfalls noch andere günstige Factoren mitwirken, wahrscheinlich solche, welche ein Ueberwuchern der Typhusbacillen durch saprophytische Bakterien verhindern.

Nach dieser die Lebensfähigkeit der Prodigiosus- und Typhusbacillen betreffenden Abschweifung komme ich auf das Verhalten der Diphtheriebacillen unter denselben Bedingungen zu sprechen.

Ein Theil je einer mit sterilem Wasser bezw. steriler physiologischer Kochsalzlösung hergestellten und filtrirten Aufschwemmung wurde in ein steriles Reagensglas gebracht und mit Watte und Gummikappe versehen im Laboratorium aufbewahrt. Da das die wässerige Aufschwemmung enthaltende Röhrchen verunglückte, konnte die Frage nicht weiter verfolgt werden; in der mit physiologischer Kochsalzlösung bereiteten Aufschwemmung waren noch nach 65 Tagen lebende Diphtheriebacillen vorhanden.

Vergleicht man damit die Lebensdauer der Typhusbacillen in flüssigen Medien, speciell in physiologischer Kochsalzlösung, so erscheint dieselbe für die Diphtheriebacillen bedeutend geringer.

Dagegen haben sich die Diphtheriebacillen gegen Austrocknung ziemlich resistent erwiesen.

Wie bei den Verspritzungsversuchen mit Prodigiosus- und Typhusbacillen, so wurden nämlich auch in den zur Versprayung verwendeten Aufschwemmungen von Diphtheriebacillen Seidenfäden und Leinwandstückchen getränkt und darauf der unmittelbaren Einwirkung des diffusen Tageslichtes und der Austrocknung ausgesetzt. Es zeigte sich nun bei

---

[1] Sidney Martin, Mittheilungen über das Fortkommen des Typhusbacillus im Boden. *Twenty-seventh annual report of the local government board 1897—98.* London 1898. Ref. im *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXV. S. 775.

[2] X. internationaler Congress für Hygiene und Demographie zu Paris. *Deutsche Vierteljahresschrift für öffentl. Gesundheitspflege.* 1900. Bd. XXXII.

der Prüfung in Bouillon, dass die Keimfähigkeit der Seidenfäden und Leinwandstückchen, welche mit der dünnen zu den 5 ersten Verspritzungsversuchungen verwendeten Aufschwemmungen von Diphtheriebacillen getränkt wurden, 15 bezw. 8 Tage betrug.

Dabei erschien es ohne Belang, ob die Aufschwemmungen mit sterilem Wasser oder mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt waren.

Bei den Versuchen Nr. 6 und 7 kamen etwas dichtere Aufschwemmungen zur Verwendung. Dementsprechend währte die Keimfähigkeit etwas länger, für die Seidenfäden im Ganzen 18 Tage, für die Leinwandläppchen 10 Tage.

Um des Weiteren noch den Einfluss der Keimdichte auf die Erhaltung der Lebensfähigkeit zu studiren, wurde eine dichtere Diphtheriebacillenaufschwemmung hergestellt.

Zu dem Zwecke wurden die Beläge einer Reihe von 48 stündigen Serumröhrchen mit dem Condenswasser je eines Röhrchens abgeschwemmt. Mit der so erhaltenen Aufschwemmung wurden wieder Seidenfäden und Leinwandstückchen imprägnirt.

Dabei zeigte sich, dass an den Seidenfäden noch nach 42 und an den Leinwandstückchen noch nach 26 Tagen lebende Diphtheriebacillen vorhanden waren.

Schliesslich wurden auch noch dieselben Objecte in dem Belag von 48 stündigen Diphtherieserumplatten selbst getränkt. Die Seidenfäden keimten, in Bouillon gebracht, noch nach 140, die Leinwandstückchen noch nach 115 Tagen aus.

Von Anderen sind zum Theil ähnliche Angaben über die Lebensdauer der an verschiedenen Gegenständen angetrockneten Diphtheriebacillen gemacht worden.

Eine tabellarische Uebersicht über die betreffenden Versuchsergebnisse der verschiedenen Autoren giebt Ficker.[1] Nur eines dort nicht des Näheren angeführten Falles möchte ich Erwähnung thun, der mit grosser Schärfe die aus der grossen Resistenz der in grösseren Massen angetrockneten Diphtheriebacillen resultirende Gefahr hervortreten lässt.

Abel[2] hat nämlich auf den Holzklötzchen eines Spielzeuges, welche durch die Exkrete eines an Diphtherie erkrankten Kindes inficirt wurden, noch nach 6 Monaten vollvirulente Diphtheriebacillen nachweisen können. In diphtheritischen Pseudomembranen sind ja, wie aus der Tabelle Ficker's ersichtlich, nach ähnlich langen Zeiträumen lebensfähige Diphtheriebacillen von verschiedenen Autoren gefunden worden.

---

[1] Ficker, Ueber Lebensdauer und Absterben von pathogenen Keimen. *Diese Zeitschrift.* 1898. Bd. XXIX.

[2] Abel, Beitrag zur Frage der Lebensdauer der Diphtheriebacillen. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1893. Bd. XIV.

Was lehren nun die im Vorstehenden beschriebenen mit Diphtheriebacillen angestellten Versuche?

Zunächst erhellt aus den Versuchen Nr. 1 und 2 der Tabelle I, dass die mit feinsten Tröpfchen verspritzten Diphtheriebacillen schon innerhalb der ersten 24 Stunden für die Untersuchung mit Glycerin-Agar, einem zwar geeigneten, aber nicht optimalen Nährboden, verschwunden sind. Die drei letzten Columnen der Tabelle I bestätigen dieses Ergebniss auch für die Verwendung von physiologischer Kochsalzlösung als Aufschwemmungsmittel, zeigen aber, dass die mit feinsten Tröpfchen verspritzten Diphtheriebacillen auch noch innerhalb der nächsten 24 bis 48 Stunden nach der Verspritzung lebend angetroffen werden können, nur ist zur Erbringung dieses Nachweises ein geeigneter Nährboden, so beispielsweise flüssiges Löffler'sches Blutserum erforderlich.

Um nun den quantitativen Ablauf des Absterbens der fein vertheilten Diphtheriebacillen verfolgen zu können, wurden bei den drei letzten Verspritzungsversuchen zur Untersuchung der Schälchen das in der oben angegebenen Weise modificirte Wassermann'sche Serum verwendet (Tab. II).

Damit wurden noch am 2., aber nicht mehr am 3. Tage nach der Versprayung lebende Diphtheriebacillen gefunden.

Im Versuche Nr. 6 wurden vergleichsweise auch Schälchen mit Glycerin-Agar begossen. Doch kam hier schon 7 Stunden nach der Verspritzung keine Diphtheriecolonie mehr zur Entwickelung.

In dem Versuche Nr. 7 sollte die Abhängigkeit der Lebensdauer der mit feinsten Tröpfchen verspritzten Diphtheriebacillen von der Belichtung festgestellt werden. In der That zeigte es sich, dass die in dem kümmerlich belichteten Keller befindlichen Schälchen nach 130 Stunden noch lebende Diphtheriebacillen aufwiesen, während 55 Stunden nach der Verspritzung auf den im Laboratorium gehaltenen Schälchen kein Diphtheriebacillus mehr nachgewiesen werden konnte. Durch den letzten Versuch (Nr. 8), in welchem als Aufschwemmungsmittel menschlicher Speichel verwendet wurde, sollten die in der Praxis vorkommenden Verhältnisse möglichst nachgeahmt werden.

Das Resultat war jedoch fast übereinstimmend mit den Ergebnissen der vorangehenden Versuche.

Jedenfalls konnte ein conservirender, von den mitverspritzten feinsten Speicheltröpfchen etwa herrührender Einfluss auf die Dauer der Lebensfähigkeit der Diphtheriebacillen nicht nachgewiesen werden.

Dass die Diphtheriebacillen der zu den geschilderten Versuchen benutzten Aufschwemmungen unter anderen Verhältnissen, z. B. angetrocknet an Seidenfäden und Leinwandstückchen, eine bedeutend längere Lebensfähigkeit erwiesen, ist oben ausführlich geschildert.

Es bestätigt sich hierbei auch die schon für Prodigiosus- und Typhusbacillen gemachte Beobachtung, dass die Dauer der Lebensfähigkeit der Diphtheriebacillen annähernd proportional ist der Dichte der angetrockneten Bakterienmassen. Dies zeigt besonders deutlich der Versuch, bei welchem Seidenfäden und Leinwandstückchen in dem Rasen einer Serumcultur von Diphtheriebacillen getränkt wurden. Die Dauer der Lebensfähigkeit betrug unter diesen Umständen ca. 5 bezw. 4 Monate. Dagegen blieben die von demselben Stamme herrührenden Diphtheriebacillen, mit feinsten Tröpfchen verspritzt, höchstens 2 Tage lebensfähig.

Versuche mit tuberculösem Lungenauswurf.[1]

Vorversuch.

Da es unmöglich erschien, grössere Mengen des zähen tuberculösen Sputums ohne eine zweckmässige Vorbehandlung mit einem Sprayapparat zu zerstäuben, wurde zunächst ein tuberkelbacillenfreies bronchitisches Sputum zwecks eines Vorversuches in folgender Weise zur Verspritzung vorbereitet. Es wurden 100^{ccm} des bronchitischen Sputums mit etwa der gleichen Menge sterilen destillirten Wassers verdünnt. Dieses Flüssigkeitsgemisch wurde nun zwecks gehöriger Homogenisirung und Zertheilung mit einer grösseren Menge groben Quarzsandes eine halbe Stunde lang kräftig geschüttelt.

Alsdann wurde die homogen aussehende Flüssigkeit noch mit einer kleinen Menge einer dichten Prodigiosusaufschwemmung innig vermischt. Mit Hülfe einer Wasserstrahlpumpe wurde nun das Ganze durch ein engmaschiges Drahtnetz (Maschengrösse $^1/_{16}$ ^{qmm} im Lichten) filtrirt. Die Versprayung der so gewonnenen Masse wurde mit dem sogenannten Schmidt'schen Oelzerstäuber vorgenommen, mit Hülfe dessen man einen grösseren Druck auf die zu versprayende Flüssigkeit ausüben konnte, als es bei Verwendung des gewöhnlichen Sprayapparates möglich war. Dementsprechend wurde auch ein grösseres, einen stärkeren Druck zulassendes Doppelgebläse verwendet.

---

[1] Während der Drucklegung dieser Arbeit wurden von Heymann „Versuche über die Verbreitung der Phthise durch ausgehustete Tröpfchen und durch trocknen Sputumstaub" in *dieser Zeitschrift*, 1901, Bd. XXXVIII, veröffentlicht. Der Autor stellte unter Anderem auch über die Resistenz der Tuberkelbacillen in verspritzten Tröpfchen Untersuchungen an, auf welche ich leider hier nicht mehr näher eingehen kann. Ich möchte nur darauf hinweisen, dass ich die Ergebnisse meiner in vorliegender Arbeit niedergelegten Untersuchungen bereits vor dem Erscheinen der Arbeit Heymann's in einem Vortrage vor der medicinischen Gesellschaft in Giessen am 9. Juli 1901 mitgetheilt habe. Vgl. *Deutsche med. Wochenschrift*, 1901, Nr. 35.

Es erschien vortheilhaft, an das in der Sputummasse befindliche Röhrenende des Sprayapparates einen aus einem feinen Drahtnetz hergestellten Korb (aus einer doppelten Lage des Drahtsiebes bestehend) anzubringen, der die feinsten Flocken und Fäden der Sputumflüssigkeit zwecks Vermeidung von Verstopfungen zurückhalten sollte.

Die zur Verwendung gelangten 200 ccm des verdünnten, prodigiosusbacillenhaltigen, bronchitischen Sputums wurden nach der beschriebenen Vorbehandlung innerhalb kurzer Zeit glatt verspritzt.

Bezüglich der Lebensdauer der mit feinsten Sputumtröpfchen verspritzten Prodigiosuskeimen wurde dasselbe Resultat wie in den früheren Versuchen gewonnen.

Erster Versuch mit tuberculösem Lungenauswurf.

Zu einem Verspritzungsversuche mit tuberculösem Sputum war ein möglichst frisch entleertes Sputum mit sehr zahlreichen Tuberkelbacillen und verhältnissmässig wenig anderen Mikroorganismen erwünscht.

Das zum Versuche benutzte Sputum entsprach in der That diesen Anforderungen. Es enthielt sehr zahlreiche Tuberkelbacillen (Tabelle Gaffky Nr. IX) und relativ wenig andere Mikroorganismen.

Ungefähr 200 ccm des stark geballten Sputums wurden mit eben so viel physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und in einem hohen Schüttelglase unter Verwendung von viel grobem Quarzsand eine halbe Stunde lang kräftig geschüttelt.

Die gelblich aussehende, anscheinend homogene Masse wurde unter Verwendung der Saugpumpe durch das engmaschige Drahtnetz filtrirt.

Von dem so vorbehandelten Sputum wurde ein mikroskopisches Präparat angefertigt. Dasselbe zeigte die Tuberkelbacillen in grosser Menge, meist einzeln, indess befanden sich auch mehrere kleine Bacillenhäufchen in dem Präparat.

Mit der Sputumflüssigkeit wurde zwecks Feststellung der Virulenz der in ihm enthaltenen Tuberkelbacillen 3 Meerschweinchen mit je $^1/_4$ ccm der Flüssigkeit inficirt und zwar zwei intraperitoneal und eines subcutan.

Die Verspritzung der Sputumflüssigkeit wurde in dem früher beschriebenen Apparate vorgenommen.

Auf das die exponirten Objecte tragende Gestell wurden zehn 8 cm im Durchmesser haltende Schalen gestellt; ausserdem wurden dem allerfeinsten Sprühregen zur Controle der Menge der aufgefallenen Keime mehrere gut gereinigte Deckgläschen und endlich eine mit Heydenagar armirte Schale ausgesetzt, auf welcher die Wachsthumsgeschwindigkeit der aufgefallenen Tuberkelbacillen verfolgt werden sollte.

An einem trüben Tage des October 1900, und zwar um 12 Uhr Mittags, wurde mit der Verspritzung begonnen. Nach kurzer Zeit gelang die Versprühung der Sputumflüssigkeit schon schwer und gegen 1 Uhr war ein Flüssigkeitsstrahl trotz angewandten hohen Druckes kaum noch vorhanden. Es wurde deshalb der Versuch unterbrochen und nach einer Stunde unter allen Cautelen die Sprayflasche herausgenommen. Von dem Drahtkorb, welcher ganz von einer Schleimschicht überzogen war, wurde die obere Lage ganz entfernt und die untere gut gereinigt. Die Versprayung wurde alsdann wieder aufgenommen. Nach einer weiteren Stunde waren nun ca. 200 ccm Sputumflüssigkeit unter intensiver Benutzung des Doppelgebläses verspritzt worden.

Die Versprayung des tuberculösen Sputums war ungleich schwieriger als diejenige des bronchitischen Sputums. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, dass das bronchitische Sputum schon in beginnender Zersetzung sich befand und dadurch eine Auflösung gröberer Fasern und Partikel eingetreten war.

Im Gegensatz dazu war das tuberculöse Sputum frisch, stark geballt und reich an elastischen Fasern.

Während der ganzen Dauer der Verspritzung wurde ein Luftstrom mit Hülfe der Wasserstrahlpumpe durch den Apparat hindurchgesaugt. Im Ganzen waren im Verlaufe der Verspritzung ca. 1500 Liter Luft abgesaugt worden, also durchschnittlich 12 Liter Luft in der Minute.

Mit dem nicht in die Sprayflasche eingefüllten Theil der Sputumflüssigkeit wurden Seidenfäden und Leinwandläppchen imprägnirt. Ferner wurden noch ganze Sputumballen an Schalen angetrocknet. Sowohl diese wie die getränkten Seidenfäden und Leinwandläppchen wurden im Laboratorium an demselben Orte aufbewahrt, wo auch die Schälchen mit den feinsten Tröpfchen sich befanden, also unter denselben Bedingungen der Luft- und Lichtwirkung.

$1^1/_2$ Stunden nach Beendigung der Verspritzung wurden sämmtliche Gegenstände aus dem Apparate herausgenommen. Die Schalen wurden äusserlich mit in Sublimat getränkter Watte abgewischt. Die leeren Schalen wurden alsdann umgekehrt auf das Drahtnetz im Laboratorium gestellt; die mit Heydenagar versehene Schale kam in den Brütschrank bei 37° C.

Die exponirt gewesenen Deckgläschen wurden alsdann auf Tuberkelbacillen gefärbt. Letztere lagen fast alle einzeln; sehr selten sah man zwei, höchstens drei zusammenliegen. Die Vertheilung der Tuberkelbacillen war somit vorzüglich gelungen.

In einem Gesichtsfeld lagen durchschnittlich 4 bis 5 Bacillen. Unter Berücksichtigung der Grösse des Gesichtsfeldes (für Leitz's Oelimmersion

$^1/_{12}$ mit Ocular 1 und Tubuslänge $145 = 0 \cdot 24^{qmm}$) und des Flächeninhaltes einer Schale (8 cm im Durchm.) ergab sich, dass mindestens 12000 Tuberkelbacillen auf den Boden einer Schale aufgefallen sein mussten.

Bei der Verfolgung der Dauer der Lebensfähigkeit der mit feinsten Sputumtröpfchen verspritzten Tuberkelbacillen konnte von der Anwendung geeigneter künstlicher Nährböden kein Erfolg erwartet werden. Der Thierversuch konnte hier allein entscheiden.

Es war daher eine grössere Zahl von Meerschweinchen, frisch angekauft und dieselben in einem gut gereinigten und vorher mit Formalin desinficirten Stall, der allein dem Versuche diente, untergebracht worden.

Da der erste Versuch mit tuberculösem Sputum nur ein orientirender sein sollte, wurden die Untersuchungszeiten nach Beendigung der Verspritzung weit aus einander liegend gewählt.

Es wurde also folgendermaassen verfahren: $1^1/_2$ Stunden nach Beendigung der Versprayung wurden sämmtliche Objecte aus dem Apparate herausgenommen. Sofort wurde eine Prüfung auf Lebensfähigkeit der niedergefallenen Tuberkelbacillen in der unten beschriebenen Weise vorgenommen. Weitere Untersuchungen wurden 6, 24 und 48 Stunden, endlich 4 und 8 Tage nach Beendigung der Versprühung ausgeführt.

Die Thierversuche wurden folgendermaassen angestellt:

Die Schalen wurden mit 3 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung ausgespült und von der Abschwemmflüssigkeit je 1 ccm einem Meerschweinchen injicirt, und zwar bekamen zwei Meerschweinchen je 1 ccm intraperitoneal, und eines 1 ccm subcutan.

In der Spülflüssigkeit wurden durch gefärbte Deckglaspräparate Tuberkelbacillen nachgewiesen.

Die intraperitoneale Injection wurde so vorgenommen, dass nach Durchtrennung der straffen Bauchhaut mit dem Scalpell, eine stumpfe Canüle vorsichtig bohrend in die Bauchhöhle eingeführt wurde. Nach der Injection wurde die Wunde mit einem Stückchen steriler Watte bedeckt und dieselbe mit Collodium befestigt.

Die drei zu einer Prüfung erforderlichen Thiere wurden jedes Mal zusammen in einem Käfige untergebracht.

5 Tage nach der Zerstäubung wurden von der mitexponirten Heydenagarschale Klatschpräparate gemacht.

Dieselben zeigten eine zweifellose, indess kümmerliche Vermehrung der niedergefallenen Tuberkelbacillen. Da diese nach Ausweis der besprühten Deckgläschen fast ausnahmslos isolirt aufgefallen waren, war die stattgefundene Vermehrung auf der Heydenagarplatte leicht wahrzunehmen.

Das Versuchsergebniss des ersten mit tuberculösem Lungenauswurf angestellten Verspritzungsversuches ist in der folgenden Tab. III niedergelegt.

Tabelle III.

Versuch mit einem auf die Hälfte mit physiolog. Kochsalzlösung verdünnten tuberculösem Lungenauswurf.

(Gaffky's Tabelle Nr. IX.)

Verspritzte Flüssigkeitsmenge: 200 ccm. Abgesaugtes Luftquantum: 1500 L.
Verspritzungsdauer: 2 Stunden.
Anzahl der Tuberkelbacillen auf einer Schale ca. **12 000.**
Schalen in zerstreutem Tageslicht bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Die von der Beendigung d. Verspritzung bis z. Impfung der Thiere verflossene Zeit	Fortlaufende Nr. d. Versuchsthiere	Art der Impfung	Tod (†) bezw. Tödtung (×) wie lange nach d. Einspritzung	Sectionsbefund
1½ Stunden	1	intraperitoneale Einspritzung	† nach 12 Tagen	Pneumonie der linken Lunge. Die übrigen Organe erschienen makroskopisch unverändert. In Ausstrichpräparaten der Milz wurden vereinzelte Tuberkelbac. gefunden.
	2	„	× nach 55 Tagen	**Tuberculose** der ganzen Bauchhöhle. Zahlreiche Tuberkel in der Milz und im Netz. Letzteres war ganz zusammengeballt. Ausserdem Tuberculose der Leber, der Mesenterial- u. Retroperitonealdrüsen. Die Impfstelle war geschwürig zerfallen.
	3	subcutane Einspritzung	† nach 31 Tagen	**Tuberculose** in der Bauchhöhle. Zahlreiche Tuberkel in der Milz und im Netz. Tuberculöse käsige Herde in der Leber. Käsige Entartung der Lymphdrüsen. Hochgradige linksseitige Pneumonie.
6 Stunden	4	intraperit. Einspritzung	† nach 16 Tagen	**Tuberkelbildung** im Netz Im Ausstrich von Leber und Milz wurden ebenfalls Tuberkelbacillen nachgewiesen. Pneumonische Herde in beiden Lungen.
	5	„	† nach 20 Tagen	**Tuberculose** in der Bauchhöhle. Wenig zahlreiche Tuberkel in Milz und Netz. Ausgeprägte Drüsentuberculose. In den Drüsen Tuberkelbacillen färberisch nachgewiesen. — Pneumonie beider Lungen.
	6	subcutane Einspritzung	× nach 48 Tagen	**Tuberculose** der Bauchhöhle. Die vergrösserte Milz ist von zahlr. Tuberkeln durchsetzt. Tuberculöse Veränderungen in der Leber. Netz knotig-wurstförmig zusammengerollt. Hochgrad. Schwellung der Lymphdrüsen. In der Brusthöhle reichlich pleuritisches Exsudat; in den Lungen miliare Knötchen.

Tabelle III. (Fortsetzung.)

Die von der Beendigung d. Verspritzung bis z. Impfung der Thiere verflossene Zeit	Fortlaufende Nr. d. Versuchsthiere	Art der Impfung	Tod (†) bezw. Tödtung (×) wie lange nach d. Einspritzung	Sectionsbefund
24 Stunden	7	intraperit. Einspritzung	† nach 28 Tagen	**Tuberculose** in der Bauchhöhle. Zahlreiche miliare Tuberkeln an der Bauchwand, von Tuberkeln durchsetztes Netz. Milz vergrössert, enthält wenige Tuberkeln. Die Lymphdrüsen sind erheblich geschwollen. Tuberkelbacillen in den Tuberkeln färberisch nachgewiesen. In beid. Lungen lobuläre pneumon. Herde.
	8	„	× nach 55 Tagen	**Tuberculose** der Bauchhöhle unter vorwiegender Betheiligung der Milz u. des Netzes. Hochgradige Drüsentuberculose; die Sternaldrüsen sind ebenfalls mitergriffen. An der Impfstelle fand sich ein käsiger Abscess.
	9	subcutane Einspritzung	† nach 11 Tagen	Linksseitige Pneumonie (Todesursache), sonst wurde nichts Krankhaftes gefunden. In Ausstrichpräparaten wurden Tuberkelbacillen nicht gefunden.
48 Stunden	10	intraperit. Einspritzg.	† nach 5 Tagen	Ausgedehnte Darmentzündung. — Die Peyer'schen Plaques sind nekrotisch.
	11	„	† nach 8 Tagen	Nekrotisirende Dickdarmentzündung. Im Oberlappen der rechten Lunge kleine fleckweise pneumonische Herde. In Ausstrichpräparaten der Milz wurden Tuberkelbacillen nicht gefunden.
	12	subcutane Einspritzung	† nach 45 Tagen	**Tuberculose** in der Bauchhöhle unter vorwiegender Betheiligung der Milz (vergrössert und von Tuberkeln durchsetzt), der Leber (gelbe Herde) und des Netzes (ebenfalls mit Tuberkeln besetzt). Allgemeine Drüsentuberculose.
4 Tage	13	intraperit. Einspritzung	† nach 32 Tagen	**Tuberculose** der Bauchhöhle. Milz von zahlreichen Tuberkeln durchsetzt. Die Leber zeigte gelbe Herde. Das mit Tuberkeln besetzte Netz stark aufgerollt. Drüsen nur wenig geschwollen. In Ausstrichpräparaten von Tuberkeln wurden Tuberkelbacillen nachgewiesen, ebenso in Schnitten der Leber.
	14	„	× nach 50 Tagen	Ausgebreitete **Tuberculose** der Bauchhöhle. Grosse, von zahlreichen Tuberkeln durchsetzte Milz; grosse verfettete Leber mit gelben Herden. Mesenterial- u. Retroperitonealdrüsen stark vergrössert. Lymphdrüsen am Sternum infiltrirt. Lungen noch frei.

Tabelle III. (Fortsetzung.)

Die von der Beendigung d. Verspritzung bis z. Impfung der Thiere verflossene Zeit	Fortlaufende Nr. d. Versuchsthiere	Art der Impfung	(Tod †) bezw. (Tödtung) (×) wie lange nach d. Einspritzung	Sectionsbefund
4 Tage	15	subcutane Einspritzung	† nach 38 Tagen	Tuberculose der Inguinaldrüsen. Einzelne Tuberkeln in der Milz. Schwellung der Mesenterialdrüsen. In Ausstrichpräparaten der Inguinaldrüsen u. der Milz wurden Tuberkelbacillen nachgewiesen. Pneumonie d. rechten Lunge.
8 Tage	16	intraperit. Einspritzg.	† nach 5 Tagen	Pneumonie der linken Lunge. Sonst wurde nichts Krankhaftes aufgefunden.
	17	„	† nach 15 Tagen	Linksseitige Pneumonie; in der rechten Lunge fleckweise pneumonische Herde. In Ausstrichpräparaten u. Schnitten von Milz und Leber wurden weder Tuberkelbacillen noch auf Tuberculose hindeutende Gewebsveränderungen gefunden.
	18	subcutane Einspritzung	× nach 50 Tagen	Keine krankhaften Erscheinungen. Das Thier war insbesondere frei von Tuberculose.

Controlen mit dem zur Verspritzung benutzten Material.
Drei Thiere wurden mit 0·25 ccm desselben unmittelbar vor der Verspritzung inficirt.

	19	intraperitoneale Einspritzung	† nach 12 Tagen	Im unteren Abschnitte der Bauchhöhle circumscripte eitrige Peritonitis, im übrigen Theil der Bauchhöhle reichlich hämorrhagisch gefärbte Flüssigkeit. Makroskopisch keine tuberculös. Veränderungen erkennbar. In Ausstrichpräparaten von Milz und Leber werden Tuberkelbacillen nachgewiesen. Pneumonische Herde in beiden Lungen.
	20	„	† nach 18 Tagen	Chronische Peritonitis, durch die der linke Leberlappen an die Bauchwand fixirt wurde. Tuberkeln in der Milz. Mesenterialdrüsen geschwollen. In Tuberkeln der Milz Tuberkelbacillen färberisch nachgewiesen.
	21	subcutane Einspritzung	† nach 34 Tagen	Tuberculose in der Bauchhöhle. Zahlreiche Tuberkeln in der Milz. Gelbe Herde in der Leber. Drüsen stark geschwollen, zum Theil verkäst. Pneumonische Herde in den Lungen.

Zu dem vorstehenden Versuche ist noch zu bemerken, dass während der über 8 Tage sich erstreckenden Versuchsdauer trübe Witterung vorherrschend war.

Wie die Tabelle zeigt, bewahren unter den angegebenen Verhältnissen die mit feinsten Sputumtröpfchen verspritzten Tuberkelbacillen mindestens 4 Tage ihre Lebensfähigkeit.

Die nach 8 Tagen von einem Schälchen gewonnene Abschwemmflüssigkeit machte die Versuchsthiere nicht mehr tuberculös.

Die Zeit des Absterbens der Tuberkelbacillen muss also zwischen 4 und 8 Tagen nach der Verspritzung gelegen sein.

Vergleicht man hiermit die Lebensdauer der Tuberkelbacillen desselben Materials, angetrocknet an verschiedene unter denselben Bedingungen wie die besprühten Schälchen gehaltenen Objecte, so erhellt auch hier wieder ein beträchtlicher Unterschied bezüglich der Erhaltung der Lebensdauer, wie dies schon für andere Bakterien festgestellt wurde. Es ergab sich nämlich, dass an den getränkten Seidenfäden 45 Tage, und an den getränkten Leinwandläppchen 30 Tage für Meerschweinchen virulente Tuberkelbacillen vorhanden waren.

In dicken, auf Schalen angetrockneten und im Laboratorium aufbewahrten Sputumballen blieben die Tuberkelbacillen sogar $3^1/_2$ Monate für Meerschweinchen pathogen.

Im Folgenden sind die Versuchsergebnisse, die bisher in der Litteratur bezüglich der Lebensdauer ein- bezw. angetrockneter Tuberkelbacillen verzeichnet sind, zusammengestellt.

Tabelle IV.

Versuche der verschiedenen Autoren über die Lebensdauer von Tuberkelbacillen unter dem Einflusse der Trocknung und Belichtung.

Autor	Medium, in welchem sich die Tuberkelbacillen befanden	Object der Fixation	Aufbewahrt	Lebensdauer der Tuberkelbacillen in maximo
R. Koch[1]	eingetrockneter Lungenauswurf	—	—	1–2 Monate
Malassez u. Vignal[2]	„	—	bei abwechselndem Anfeuchten u. Trocknen	12 Tage
de Toma[3]	„	—	—	10 Monate
Sormani[4]	„	—	—	2 „
Cadéac und Malet[5]	tuberculöse Organstückchen	—	in Pulverform	102 Tage
„	„	—	in faustgrossen Stücken getrocknet	150 „

Tabelle IV. (Fortsetzung.)

Autor	Medium, in welchem sich die Tuberkelbacillen befanden	Object der Fixation	Aufbewahrt	Lebensdauer der Tuberkelbacillen in maximo
Galtier[6]	getrocknete tuberculöse Organstückchen	—	—	38—43 Tage
Schill und Fischer[7]	eingetrockneter Lungenauswurf	—	—	4—6 Monate
R. Koch[8]	Culturen	—	im direct. Sonnenlicht	einige Stunden
„	„	—	im zerstreut. Tageslicht	7 Tage
Maffucci[9]	„	—	—	6 Monate
„	Aufschwemmung von Culturen	Seidenfäden	im Exsiccator über gebranntem Kalk	1-2 „
Sawitzky[10]	in eingetrocknetem Lungenauswurf	—	im Zimmer	2½ „
Straus[11]	angetrocknetes Sputum (dünne Schicht)	—	im Sonnenlicht	½ Stunde
Migneco[12]	tuberculöses Sputum	Leinwand und Wolle	„	24—30 Std.
Mitchell u. Crouch[13]	„ „	Sand	„	30 Stunden
Cornet[14]	eingetrockneter Lungenauswurf	—	—	8 Monate
Ottolenghi[15]	tuberculöser Auswurf	—	im Sonnenlicht	14½ Stunden
„	„ „	—	im Tageslicht	120 Tage

[1] R. Koch, Die Aetiologie der Tuberculose. *Mittheilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1882. Bd. I. — *Berliner klin. Wochenschrift.* 1882. S. 229.

[2] Malassez u. Vignal, *Compt. rend. de la Société de biolog.* 1883. p. 131.

[3] De Toma, Sulla virulenza dello sputo tubercolare. *Annal. univers. di medic.* 1886.

[4] G. Sormani, La vitalita del bacillo tubercolare. *Giorn. d'igiene.* 1886. p. 131.

[5] Cadéac et Malet, Recherches expérimentales sur la virulence des matières tuberculeuses deséchées, putrefiées ou congélées. *Révue vétérinaire de Toulouse.* 1889.

[6] Galtier, Dangers des matières tuberculeuses qui ont subi la dessication, le contact prolongé de l'eau. *Compte rendu de l'Academie des sciences.* 1887. T. CV. p. 231.

[7] Schill und Fischer, Ueber die Desinfection des Auswurfs der Phthisiker. *Mittheilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1889. Bd. II. S. 133.

[8] R. Koch, Ueber bakteriologische Forschung. *Verhandlungen des X. intern. medicin. Congresses zu Berlin.* 1890. Bd. I.

[9] Maffucci, Die Hühnertuberculose. *Diese Zeitschrift.* 1892. Bd. XI. S. 466 und 467.

[10] Sawitzky, Zur Frage über die Dauer der infectiösen Eigenschaften des eingetrockneten tuberculösen Sputums. *Centralblatt f. Bakteriologie.* 1892. Bd. XI. S. 153.

[11] Straus, *La Tuberculose et son bacille.* Paris 1895. Rueff et Co. p. 220.

[12] Migneco, Azione della luce solare sulla virulenza del bacillo tubercolare. *Ann. d'igiene sperim.* p. 215. — Ref. bei Baumgarten. Jahrg. XI. 1895. S. 698.

[13] Mitchell and Crouch, The influence of sunlight on tuberculous sputum in Denver. *Journ. of Path. and Bact.* Vol. VI. p. 14—31. — Ref. in *Hygien. Rundschau.* 1899. Bd. IX. S. 766.

[14] Cornet, Die Tuberculose. *Specielle Pathologie und Therapie* von H. Nothnagel. Wien 1899. Bd. XIV. Th. III. S. 27.

[15] Ottolenghi, Ueber die Desinfection der tuberculösen Sputa in Wohnräumen. *Diese Zeitschrift.* 1900. Bd. XXXIV. S. 279 u. 280.

Man ersieht aus der Zusammenstellung, dass die verschiedenen Autoren auch bei annähernd gleichen Versuchsbedingungen doch zu sehr differenten Resultaten bezüglich der Lebensdauer der Tuberkelbacillen gelangt sind. Dies mag einmal in der verschiedenen Virulenz des Ausgangsmateriales, vor Allem aber in der verschieden grossen Dichtigkeit der getrockneten tuberkelbacillenhaltigen Massen seinen Grund haben.

Im Allgemeinen muss jedenfalls auf Grund der vorstehenden Versuchsergebnisse dem Tuberkelbacillus eine hohe Widerstandsfähigkeit gegen Austrocknung zugeschrieben werden. Auch im Wasser, Boden und Faulflüssigkeiten zeigt der Tuberkelbacillus eine grosse Resistenz (Petri, Loesener, Galtier, Schill und Fischer, Sormani u. A.).

In neuerer Zeit hat P. Musehold[1] zahlreiche Versuche über die Widerstandsfähigkeit der mit dem Lungenauswurf herausbeförderten Tuberkelbacillen in Abwässern u. s. w. angestellt. Der Autor ist dabei zu folgendem wichtigen Ergebniss gekommen:

„Die Widerstandsfähigkeit der mit dem Lungenauswurf herausbeförderten Tuberkelbacillen stellt sich in natürlichen Abwässern von jaucheartiger Beschaffenheit und im Boden, in welchem sie mit solchen Abwässern überführt worden sind, trotz der Summe von Schädlichkeiten, die dabei auf sie einwirken können, — trotz Frost, Schnee, Regen, Sonnenschein, trotz Fäulniss und trotz der Concurrenz einer mannigfachen Bakterienflora, — im Grossen und Ganzen nicht anders, als in getrockneten Sputis; die Tuberkelbacillen bewahren trotz aller dieser Schädlichkeiten ihre Fähigkeit, Tuberculose zu verursachen, eine Anzahl von Monaten hindurch."

Es darf daher nicht Wunder nehmen, dass, wenn Tuberkelbacillen in grösseren Massen an Gegenständen angetrocknet oder in Flüssigkeiten

[1] Musehold, Ueber die Widerstandsfähigkeit der mit dem Lungenauswurf herausbeförderten Tuberkelbacillen in Abwässern, im Flusswasser und im cultivirten Boden. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1900. Bd. XVII.

suspendirt, mannigfaltigen Schädlichkeiten Monate lang Widerstand leisten können, der Tuberkelbacillus als Einzelindividuum den schädlichen Einflüssen der Austrocknung und der diffusen Tagesbelichtung wenigstens 4 Tage lang ungeschwächt Trotz bieten kann.

Um nun den Zeitpunkt der Lebensdauer der mit feinsten Sputumtröpfchen verspritzten Tuberkelbacillen womöglich noch genauer abzugrenzen, wurde noch ein weiterer Verspritzungsversuch mit tuberculösem Lungenauswurf vorgenommen.

Zweiter Versuch mit tuberculösem Auswurf.

Dieser Versuch wurde erst Ende März 1901 angestellt, in der Hoffnung, zu Beginn der wärmeren Jahreszeit weniger Versuchsthiere intercurrent an Pneumonie zu verlieren, als dies im Winter der Fall war.

Für die Unterbringung der wieder frisch angekauften ausgewachsenen Meerschweinchen wurde ein geräumiger Stall gründlich gereinigt und mit Formalin desinficirt.

Zu dem Versuche wurde ein Sputum verwendet, welches ungefähr dieselbe Anzahl von Tuberkelbacillen aufwies wie das zum ersten Versuche benutzte, also ein Auswurf von der Tuberkelbacillenzahl Gaffky Nr. IX. Das Sputum enthielt jedoch ziemlich viel andere Mikroorganismen.

150 ccm des Auswurfs wurden mit der gleichen Menge sterilen Wassers versetzt und mit 50 ccm groben scharfkantigen Quarzsandes eine halbe Stunde lang kräftig geschüttelt. Das so gewonnene homogen erscheinende Material wurde alsdann noch durch das engmaschige Drahtnetz filtrirt.

In einem Theile dieser Flüssigkeit wurden wieder Seidenfäden und Leinwandläppchen getränkt und theils im Laboratorium, theils im Keller aufbewahrt.

Ferner wurden als Controlen 2 Meerschweinchen mit je $^1/_{10}$ ccm des Materials subcutan inficirt.

Mit Hülfe des Schmidt'schen Zerstäubers wurden nahezu 200 ccm der Sputumflüssigkeit im Verlauf von 2 Stunden versprüht; während dessen wurden 1200 Liter Luft abgesaugt.

Die Versuchsanordnung war im Uebrigen dieselbe wie im ersten Versuche.

2 Stunden nach Beendigung der Zerstäubung wurden die Schalen und die Controldeckgläschen aus dem Apparate herausgenommen.

Um auch den Einfluss mangelnder Belichtung auf die mit feinsten Tröpfchen verspritzten Tuberkelbacillen im Gegensatz zu den im zerstreuten Tageslicht befindlichen festzustellen, wurde die Hälfte der exponirt ge-

wesenen Schalen im Keller, die andere Hälfte dagegen im Laboratorium unter den gewöhnlichen Bedingungen gehalten.

Was die Helligkeitsverhältnisse während der Versuchszeit angeht, so waren dieselben an den ersten vorzugsweise in Betracht kommenden Tagen entsprechend dem dieser Jahreszeit eigenthümlichen Witterungswechsel sehr ungleich.

Der durchschnittliche während der Versuchsdauer herrschende relative Feuchtigkeitsgehalt im Keller betrug ca. 84 Procent, die Kellertemperatur im Mittel 9° C.

Auf den besprühten Controldeckgläschen wurden nach ihrer Färbung fast immer nur isolirt liegende Tuberkelbacillen, selten Zusammenlagerungen von 2 bis 3 beobachtet.

Die Zahl der auf eine Schale mit feinsten Tröpfchen niedergefallenen Tuberkelbacillen berechnete sich auf 6000 bis 7000.

Da auf Grund des Ergebnisses des ersten Versuches mit Sicherheit anzunehmen ist, dass innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Versprayung die mit feinsten Tröpfchen verspritzten Tuberkelbacillen noch nicht absterben, dass vielmehr das Zugrundegehen der Tuberkelbacillen unter den genannten Bedingungen etwa erst zwischen dem 4. und 8. Tage nach der Verspritzung erfolgen muss, schienen für einen zweiten Versuch Untersuchungszeiten, die 1, 2, 4, 6, 8 und 10 Tage nach der Zerstäubung gelegen waren, zweckmässig für die Prüfung der im Laboratorium gehaltenen Schalen.

Für die Untersuchungen der im Keller verwahrten Schalen wurden Termine von 6, 10, 22 und 40 Tagen vorgesehen.

Da das verwendete Sputum ziemlich viel fremde Keime enthielt, wurden mit der Abschwemmflüssigkeit der Schalen nur ein Meerschweinchen intraperitoneal, dagegen zwei subcutan inficirt. Je drei zu einer Untersuchung gehörigen Thiere wurden wieder in einem vorher gründlich mit Sodalösung gereinigten Käfige untergebracht.

Erwähnt sei noch, dass die exponirt gewesene Heydenagarschale nach 5 tägigem Verweilen im Brütschrank eine deutliche Vermehrung der aufgefallenen Tuberkelbacillen in der Form von Schleifen im Klatschpräparat erkennen liess.

Ueber das Resultat des zweiten Verspritzungsversuches mit tuberculösem Lungenauswurf giebt die folgende Tabelle Aufschluss.

Tabelle V.

Versuch mit einem auf die Hälfte mit sterilem Wasser verdünnten tuberculösen Lungenauswurf (Gaffky's Tabelle IX).

Verspritzte Flüssigkeitsmenge: 200 ccm. Abgesaugtes Luftquantum: 1200 L.
Verspritzungsdauer: 2 Stunden.
Anzahl der Tuberkelbacillen auf einer Schale: ca. **6000** bis **7000.**

1. Schalen in zerstreutem Tageslicht bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Die von der Beendigung d. Verspritzung bis z. Impfung der Thiere verflossene Zeit	Fortlaufende Nr. d. Versuchsthiere	Art der Impfung	Tod (†) bezw. Tödtung (×) wie lange nach d. Einspritzung	Sectionsbefund
1 Tag	1	subcutane Einspritzung	† nach 36 Tagen	**Tuberculose** der Drüsen. Zahlreiche Tuberkel in der Milz. Netz von Tuberkeln durchsetzt und wurstförmig zusammengerollt. Im Ausstrichpräparat von Tuberkeln der Milz Tuberkelbac. nachgewiesen. An der Impfstelle fand sich ein käsiger Abscess.
	2	„	† nach 12 Tagen	Schwellung der Inguinaldrüsen. In der Bauchhöhle eine geringe Menge Ascites. Makroskopisch keine tuberculösen Veränderungen sichtbar. Starke Darmentzündung. Lungen normal. **Tuberkelbacillen** wurden in den geschwollenen Inguinaldrüsen vereinzelt nachgewiesen.
	3	intraperitoneale Einspritzung	† nach 23 Tagen	Beginnende **Tuberculose** des Netzes. Milz und Leber noch nicht tuberculös verändert. Schwellung der Mesenterial- und Retroperitonealdrüsen. In Tuberkeln des Netzes Tuberkelbacillen färberisch nachgewiesen. Pneumonische Herde in den Lungen.
2 Tage	4	subcutane Einspritzg.	† nach 6 Tagen	Es wurde nichts Krankhaftes gefunden.
	5	„	× nach 48 Tagen	**Tuberculose** der Bauchhöhle. Netz von Tuberkeln durchsetzt u. zusammengerollt. Die vergrösserte Milz enthält zahlreiche Tuberkel. Die Leber zeigte gelbe Herde. Allgemeine Drüsentuberculose.
	6	intraperitoneale Einspritzung	† nach 15 Tagen	Vereinzelte **Tuberkeln** im Netz. Milz noch nicht sichtbar verändert. Mesenterial- und Retroperitonealdrüsen geschwollen. In Tuberkeln des Netzes Tuberkelbacillen färberisch nachgewiesen. Unterlappen der linken Lunge pneumonisch verändert.

Tabelle V. (Fortsetzung.)

Die von der Beendigung d. Verspritzung bis z. Impfung der Thiere verflossene Zeit	Fortlaufende Nr. d. Versuchsthiere	Art der Impfung	Tod (†) bezw. Tödtung (×) wie lange nach d. Einspritzung	Sectionsbefund
4 Tage	7	subcutane Einspritzg.	† nach 5 Tagen	Darmentzündung. Peyer'sche Plaques nekrotisch. Sonst nichts Abnormes.
	8	„	† nach 29 Tagen	Umfangreiche Schwellung der Inguinaldrüsen, namentlich rechterseits. Vereinzelte Knötchen im Netz. In letzteren **Tuberkelbacillen** färberisch nachgewiesen. Milz und Leber makroskopisch unverändert. Jedoch werden im Milzausstrichpräparat ebenfalls Tuberkelbacillen gefunden, Pneumonische Herde in den Lungen.
	9	intraperit. Einspritzg.	† nach 2 Tagen	Peritonitis.
6 Tage	10	subcutane Einspritzg.	† nach 18 Tagen	Pneumonie der r. Lunge; im Uebrigen normaler Befund.
	11	„	× nach 60 Tagen	Nichts Krankhaftes nachzuweisen.
	12	intraperit. Einspritzg.	† nach 17 Tagen	In der Bauchhöhle ist nichts Abnormes sichtbar. Drüsen sind nicht geschwollen. Mikroskopisch sind keine Tuberkelbacillen zu finden. Pneumonie der linken Lunge.
10 Tage	13	subcutane Einspritzg.	† nach 7 Tagen	Enteritis. Sonst nichts Krankhaftes gefunden.
	14	„	† nach 22 Tagen	Darmstenose. Tuberculose ist weder makroskopisch noch mikroskopisch zu finden.
	15	intraperit. Einspritzg.	† nach 34 Tagen	Bauchorgane normal. Keine tuberculösen Veränderungen. In den Lungen pneumonische Herde.
2. Schalen im Keller bei durchschnittlich 9° C. aufbewahrt.				
6 Tage	16	subcutane Einspritzg.	† nach 3 Tagen	Enteritis
	17	„	† nach 37 Tagen	**Tuberkelbildung** im Netz, vereinzelt auch in der Milz. Inguinaldrüsen stark geschwollen, z. Th. verkäst. In Tuberkeln des Netzes Tuberkelbacillen färberisch nachgewiesen. Pneumonische Herde in der linken Lunge.
	18	intraperit. Einspritzg.	† nach 43 Tagen	**Tuberculose** in der Bauchhöhle. Reichliche Tuberkelbildung im Netz und in der Milz. Tuberculose der Drüsen. Die Mesenterialdrüsen z. Th. verkäst. Doppelseitige Pneumonie.

Tabelle V. (Fortsetzung.)

Die von der Beendigung d. Verspritzung bis z. Impfung der Thiere verflossene Zeit	Fortlaufende Nr. d. Versuchsthiere	Art der Impfung	Tod (†) bezw. Tödtung (×) wie lange nach d. Einspritzung	Sectionsbefund
10 Tage	19	subcutane Einspritzg.	† nach 4 Tagen	Nichts Krankhaftes gefunden.
	20	„	„	Enteritis.
	21	intraperit. Einspritzg.	† nach 41 Tagen	**Tuberculose** in der Bauchhöhle. Zahlreiche Tuberkel im Netz und der Milz, einzelne Tuberkel am Zwerchfell. Die Lymphdrüsen sind z. Th. erheblich vergrössert. In Ausstrichpräparaten von Milztuberkeln Tuberkelbacillen nachgewiesen. Das Thier war stark abgemagert.
22 Tage	22	subcutane Einspritzg.	† nach 6 Tagen	Darmstenose.
	23	„	† nach 9 Tagen	Doppelseitige Pneumonie.
	24	intraperit. Einspritzg.	† nach 56 Tagen	**Tnberculose** in der Bauchhöhle. Zahlreiche Tuberkel im Netz, welches wurstförmig zusammengerollt ist. In der Milz sind reichlich Tuberkel vorhanden. In letzteren wurden Tuberkelbacillen auch färberisch nachgewiesen. Die Mesenterialdrüsen hochgrad. geschwollen, z. Th. verkäst. Leber verfettet Pneumonische Herde in beiden Lungen, aber ohne tuberculöse Veränderungen.
40 Tage	25	subcutane Einspritzg.	† nach 3 Tagen	Pneumonie der linken Lunge.
	26	„	† nach 5 Tagen	Pneumonie beider Lungen.
	27	intraperit. Einspritzg.	† nach 2 Tagen	Fibrinös-eitrige Peritonitis.

Controlen mit dem zur Verspritzung benutzten Material.
2 Thiere wurden mit 0·1 ccm desselben unmittelbar vor der Verspritzung inficirt.

	28	subcutane Einspritzung	† nach 24 Tagen	Tuberculose i. d. Bauchhöhle. Tuberkelbildung in Netz und Milz. Starke Schweilung der Inguinal- u. Mesenterialdrüsen. In letzteren Tuberkelbacillen färberisch nachgewiesen. Pneumonische Herde in der linken Lunge.
	29	„	† nach 31 Tagen	An der Impfstelle 50-pfennigstückgrosser käsiger Abscess. Inguinaldrüsen hochgrad. geschwollen. Tuberculose des Netzes u. der Milz, beginnende der Leber. Mesenterialdrüsen theilweise verkäst. Thier stark abgemagert.

Der vorstehende Versuch bestätigt nicht nur das Ergebniss des ersten Verspritzungsversuches mit tuberculösem Lungenauswurf, sondern begrenzt es auch noch näher dergestalt, dass bei mittleren Beleuchtungs- und Temperaturverhältnissen das Absterben der mit feinsten Sputumtröpfchen verspritzten Tuberkelbacillen innerhalb 4 bis 6 Tagen nach der Verspritzung, also ungefähr nach 5 Tagen erfolgt. Des Weiteren geht aber aus dem gleichzeitig angestellten Parallelversuch mit den im Keller verwahrten Schalen das wichtige Resultat hervor, dass die mit feinsten Tröpfchen verspritzten Tuberkelbacillen vor Licht geschützt bezw. in einem Kellerraum wenigstens 22 Tage lebensfähig bleiben können. Die thatsächliche Grenze für das Absterben im Kellerraum konnte leider nicht bestimmt werden, da die drei 40 Tage nach der Verspritzung mit der Abschwemmflüssigkeit einer „Kellerschale" inficirten Thiere kurze Zeit nach der Injection eingingen.

Wir haben demnach in dem Tuberkelbacillus einen Mikroorganismus gefunden, welcher an Dauer der Lebensfähigkeit die anderen bisher in Betracht gezogenen Bakterien um ein Bedeutendes übertrifft.

Der Tuberkelbacillus scheint auch in dieser Beziehung unter den nicht sporenbildenden Bacillen eine ähnliche Ausnahmestellung einzunehmen wie hinsichtlich seiner Färbbarkeit und Wachsthumsgeschwindigkeit.

Die den Einzelindividuen des Tuberculoseerregers eigene Resistenz überrascht weniger, wenn man bedenkt, dass der Tuberkelbacillus nach Untersuchungen von Aronson[1] eine im Wesentlichen aus Fettsäuren und einer wachsartigen Masse bestehende harte Schale besitzt, innerhalb deren er gegen schädigende Einflüsse besser geschützt ist als die anderen nicht sporenbildenden einer solchen Hülle entbehrenden Bacillen.

Wiederum erwies sich auch für den Tuberkelbacillus eine bedeutend längere Lebensfähigkeit, wenn er in dichteren Massen angetrocknet wurde.

Denn auch in dem zweiten Versuche beherbergten die in der Sputumflüssigkeit getränkten und im Laboratorium aufbewahrten Seidenfäden, wenigstens 4 Wochen, die im Keller gehaltenen wenigstens 6 Wochen virulente Tuberkelbacillen. Spätere Untersuchungen wurden nicht mehr vorgenommen, um nicht zuviel Thiere opfern zu müssen.

Versuche mit Geflügelcholerabakterien.

Bei einer Erkrankung der Athmungsorgane nimmt die Gefahr der sogenannten Tröpfcheninfection einen besonders unheimlichen Charakter an, nämlich bei der Lungenpest.

---

[1] Aronson, Zur Biologie des Tuberkelbacillus. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1898. Nr. 22.

Es ist ja bekannt, dass Lungenpestkranke oft geradezu Reinculturen von Pestbakterien mit dem Lungenauswurf entleeren. Von grosser Wichtigkeit wäre es deshalb, zu wissen, wie lange die von Lungenpestkranken mit feinsten Tröpfchen verspritzten Pestbakterien nach ihrem Absitzen lebensfähig bleiben.

Bei der Gefährlichkeit derartiger Versuche musste ich indessen von Verspritzungsversuchen gerade mit Pestbakterien Abstand nehmen.

Dafür wählte ich einen dem Pestbacterium morphologisch und biologisch nahestehenden, ebenfalls der Gruppe der sog. hämorrhagischen Septicämieen angehörigen Mikroorganismus, nämlich das Bacterium der Geflügelcholera.

Was die Virulenz des verwendeten Culturstammes betrifft, so tödtete die minimalste Spur eine Taube innerhalb 20 Stunden.

Zunächst wurde ein orientirender Versuch Mitte März 1901 bei theilweise bewölktem Himmel angestellt. Es wurden 20 ^{ccm} einer 24 stündigen Bouilloncultur wieder unter Absaugung von 180 Liter Luft während 15 Minuten verspritzt.

In einem Theile der Bouilloncultur wurden wieder Seidenfäden und Leinwandläppchen getränkt und im Laboratorium aufbewahrt.

Während der Verspritzung standen in der hinteren Abtheilung des Apparates als Controlschälchen ein mit Glycerin-Agar und ein mit Nutroseserum-Agar versehenes Schälchen.

Vorweg sei bemerkt, dass auf dem Serum-Agarschälchen 4400, auf dem Glycerin-Agarschälchen nur ca. 100 Colonieen zur Entwickelung kamen.

2 Stunden nach der Versprayung wurden die Schälchen aus dem Apparat herausgenommen und die eine Hälfte im Laboratorium, die andere im Keller der Luft zugänglich aufgestellt. Sofort wurden 2 Schälchen mit Serum-Agar bezw. Glycerin-Agar versehen; auf ersterem kamen ca. 1200, auf dem Glycerin-Agarschälchen jedoch keine Colonie mehr zur Entwickelung.

Auf den 10 und 15 Stunden nach der Verspritzung im Laboratorium befindlichen Schälchen waren die Keime sowohl für die Untersuchung mit Serum-Agar als auch mit Glycerin-Agar verschwunden.

Mit den im Keller aufbewahrten Schälchen wurde erst 42 Stunden nach der Verspritzung die erste Untersuchung mit Serum-Agar angestellt. doch kam bei dieser wie bei den folgenden Prüfungen keine Geflügelcholeracolonie mehr zum Vorschein.

Der Versuch lehrte also, dass die mit feinsten Tröpfchen verspritzten Geflügelcholerabakterien dem zerstreuten Tageslicht frei ausgesetzt schon innerhalb der ersten 10 Stunden absterben mussten.

An den in derselben Bouilloncultur getränkten Seidenfäden wurden in Nährbouillon 8 Tage, an den Leinwandläppchen 7 Tage entwickelungsfähige Geflügelcholerabakterien nachgewiesen.

Es bestätigt sich also auch für diesen Mikroorganismus die seither gemachte Beobachtung der längeren Dauer der Lebensfähigkeit in dichteren angetrockneten Massen.

Im Allgemeinen ist nun bekannt, dass die Geflügelcholerabakterien das Austrocknen überhaupt schlecht vertragen. Es berichten nämlich eine Reihe von Autoren, wie Delafond, Renault, Marchiafava, Celli, Salmon, Rivolta, Kitt, dass der Erreger der Hühnercholera beim Austrocknen der bakterienhaltigen Blutproben, Organe und Culturen seine Lebensfähigkeit in kurzer Zeit einbüsst. Nach Weichselbaum[1] bleiben die Geflügelcholerabacillen beim Austrocknen bis zu 14 Tagen lebensfähig.

Einige Tage nach dem beschriebenen orientirenden Versuche wurde ein zweiter Versuch an einem regnerischen Tage angestellt.

Es wurden diesmal unter sonst gleichen Bedingungen 50 ccm 24stündiger Bouilloncultur verspritzt.

Nach der Herausnahme der Schälchen aus dem Apparate wurde die eine Hälfte derselben wieder im Laboratorium, die andere im Keller aufgestellt. Die in kurzen Zwischenräumen nach der Verspritzung vorgenommenen Untersuchungen der Schälchen geschahen ausschliesslich mit Serum-Agar.

Ueber den Verlauf des Versuches giebt die folgende Tabelle näheren Aufschluss.

Tabelle VI.

Versuch mit einer 24stündigen Bouilloncultur von Geflügelcholerabakterien.

Colonieenzahl auf dem Controlserum-Agarschälchen nach 24 Stunden ca. **25000**.

Zeiten nach der Verspritzung	1. Schälchen im Laboratorium aufbewahrt		2. Schälchen im Keller aufbewahrt	
	Resultat	Zahl der Colonieen	Resultat	Zahl der Colonieen
1½ Stunden	+	ca. 3100	∽	∽
3 „	+	ca. 300	∽	∽
5 „	+	ca. 100	∽	∽
8 „	+	5	∽	∽
10 „	—	—	∽	∽
17 „	—	—	+	1
24 „	—	—	—	—
Weitere Untersuchungen	—	—	—	—

+ = positives, — = negat. Resultat, ∽ = eine Untersuchung hat nicht stattgefunden.

[1] Weichselbaum, Parasitologie in Weyl's *Handbuch der Hygiene.* 1898.

In der Erkenntniss, dass auf einem sehr günstigen Nährboden noch eine Entwickelung von anspruchsvollen, vielleicht schon in ihrer Vitalität geschwächten Keimen zu Colonieen statthat, während dies auf einem weniger günstigen gewisse Zeit nach dem Antrocknen der Keime schon nicht mehr der Fall ist, wurde der vorzüglichste Nährboden für die Geflügelcholerabakterien, nämlich der Vogelkörper zur sicheren Beurtheilung des Zeitpunktes des Absterbens der in Rede stehenden Keime herangezogen.

Zu dem Zwecke wurden 17 Stunden nach Beendigung der Verspritzung neben der Untersuchung mit Serum-Agar noch 2 Schälchen mit 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung abgespült und die Spülflüssigkeit in den Brustmuskel einer Taube injicirt. Dieses Thier blieb gesund, während die 3 Stunden nach Beendigung der Zerstäubung von 2 Schälchen gewonnene Spülflüssigkeit eine andere Taube schon innerhalb 20 Stunden tödtete.

Nach 17 Stunden waren also auch für den Thierversuch keine Geflügelcholerabakterien mehr nachweisbar. Die Keime waren demnach bis dahin sicher zu Grunde gegangen.

Im Gegensatz zum Tuberkelbacillus haben wir also hier einen Mikroorganismus vor uns, der eine ausserordentlich kurze Lebensdauer als Einzelindividuum unter der unmittelbaren Einwirkung des diffusen Tageslichtes und der Austrocknung besitzt.

Auf das Verhältniss von Virulenzabnahme zur Wachsthumseinbusse auf künstlichen Nährböden im Verlaufe der nächsten Stunden nach der Verspritzung bin ich nicht weiter eingegangen, doch dürften gerade bei dem Geflügelcholerabacillus in dieser Hinsicht leicht interessante Aufschlüsse gewonnen werden können.

Bemerkt sei noch, dass die zu diesem Versuche gehörigen, in der Bouilloncultur getränkten Seidenfäden und Leinwandläppchen ziemlich ebenso lang wie im ersten Versuche ihre Keimfähigkeit in Bouillon bewahrten.

Obgleich man wohl auf Grund der verhältnissmässig kurzen Lebensdauer der mit feinsten Tröpfchen verspritzten Prodigiosus-, Typhus- und Diphtheriebacillen annehmen darf, dass auch die Pestbakterien mit feinsten Tröpfchen verspritzt nach ihrem Absitzen verhältnissmässig rasch zu Grunde gehen, halte ich doch eine Parallelisirung der Pestbakterien hinsichtlich ihres Absterbens in fein vertheiltem Zustande mit den ihnen verwandten Geflügelcholerabakterien nicht für berechtigt.

Denn es ist durch die in unserem Klima von Abel,[1] de Giaxa e

[1] Abel, Zur Kenntniss der Pestbacillen. *Centralblatt für Bakteriologie*. 1897. Bd. XXI. S. 505.

Gosio[1] und Germano[2] vorgenommenen Versuche festgestellt, dass die in grösseren Massen angetrockneten Pestbakterien bis zu 30 Tagen lebensfähig bleiben.

Für tropisches Klima wurde allerdings eine kürzere Lebensdauer der angetrockneten Pestbakterien gefunden (Kitasato, Wilm, die deutsche Pestcommission). Zum Theil erklärt wohl die den Pestbakterien eigenthümliche Schleimhülle, die den Geflügelcholerabacillen fehlt, den Unterschied in der Dauer der Lebensfähigkeit.

Es beanspruchen nun des Weiteren noch zwei häufig vorkommende Infectionskrankheiten eine Betrachtung, nämlich die genuine croupöse Pneumonie und die Influenza. Da bekanntlich die Erreger der beiden Krankheiten, sowohl der Fraenkel-Weichselbaum'sche Diplococcus als auch der Pfeiffer'sche Influenzabacillus schon rasch in der künstlichen Cultur und nach den vorliegenden Untersuchungen noch bedeutend schneller in angetrockneten Massen zu Grunde gehen, dürfte im Hinblick auf die mit Geflügelcholerabakterien angestellten Versuche auf ein ähnlich rasches, vielleicht noch rapideres Absterben dieser beiden mit feinsten Tröpfchen verspritzten Infectionserreger zu rechnen sein. Diesbezügliche Versuche wurden mit diesen Keimen nicht vorgenommen.

Da auf Grund der angestellten Versuche anzunehmen ist, dass stäbchenförmige Mikroorganismen, wenn sie mit feinsten Tröpfchen verspritzt der unmittelbaren Einwirkung des zerstreuten Tageslichtes und der Austrocknung ausgesetzt sind, im Allgemeinen innerhalb relativ kurzer Zeit absterben, lag die Frage der experimentellen Prüfung einer anderen Classe von Bakterien, nämlich der Kokken, in dieser Beziehung nahe.

Es interessiren hier besonders die pathogenen Staphylokokken und Streptokokken.

Da im Mund- und Nasensecret von Gesunden häufig Staphylokokken, seltener Streptokokken gefunden und bei relativ geringfügigen Affectionen des Rachens und der Nase oft Massen von Streptokokken und Staphylokokken angetroffen werden, so erhellt die Bedeutung der Frage namentlich im Hinblick auf die Fernhaltung jeglicher Infectionsgefahr bei chirurgischen Operationen.

Auch in Bezug auf die Verbreitung der sogenannten Streptokokken-Anginen dürften Versuche in der angegebenen Richtung von Werth sein.

[1] De Giaxa e Gosio, Referat im *Centralblatt für Bakteriologie.* 1897. Bd. XXII. S. 351.

[2] Germano, Die Uebertragung von Infectionskrankheiten durch die Luft. *Diese Zeitschrift.* 1897. Bd. XXVI. S. 281.

Versuche mit Staphylokokken.

Zu den Versuchen wurde ein Culturstamm von Staphylococcus pyogenes aureus verwendet, der ca. 4 Wochen vor Beginn der Versuchsreihe aus dem Blute eines an Sepsis zu Grunde gegangenen Menschen reingezüchtet wurde. Letztere hatte sich im Anschluss an eine Furunkel entwickelt.

Es wurden zunächst Verspritzungen von Aufschwemmungen von Schrägagarculturen vorgenommen und zwar waren die benutzten Aufschwemmungen so hergestellt, dass zehn 24stündige Schrägagerculturen mit 80 ccm sterilen Wassers bezw. 80 ccm physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt wurden.

Die zu beiden ersten Versuchen verwendeten Aufschwemmungen wurden durch eine hohe Lage von steriler Glaswolle filtrirt und von dem Filtrat jedes Mal 20 ccm in der gewöhnlichen Weise verspritzt.

Auf den exponirt gewesenen gefärbten Deckgläschen zeigten sich viele Häufchen von Staphylokokken und zwar sogar Conglomerate von ca. 100 bis 200 bis 300. Die Aufschwemmungen mussten demnach sehr reichliche Staphylokokkenhäufchen enthalten haben.

Deshalb wurde die für den 3. Versuch verwendete Aufschwemmung nach der Herstellung längere Zeit kräftig geschüttelt und dann durch eine dichte Lage von Asbest filtrirt.

Aber auch hier zeigte es sich, dass mit den feinsten Tröpfchen nicht regelmässig nur einzelne oder einige wenige Kokken, sondern oft mehrere bis zu 20 bis 30 zu einem Häufchen gruppirte Kokken transportirt worden waren.

Eine so ungleichmässige Vertheilung der Keime nach der Verspritzung war bei den früheren mit anderen Mikroorganismen angestellten Versuchen nicht beobachtet worden.

Dieser dritte Verspritzungsversuch mit Staphylokokken war als Parallelversuch gedacht, durch welchen der Einfluss mangelnder Belichtung auf die mit feinsten Tröpfchen verspritzten Staphylokokken festgestellt werden sollte. Zu dem Zwecke wurde ein Theil der Schälchen im Keller verwahrt, in welchem eine relative Feuchtigkeit von 88 Procent bei einer Temperatur von 8° C. herrschte.

Alle mit den Aufschwemmungen von Staphylokokken vorgenommenen Verspritzungsversuche fallen in die ersten Tage des December. Bezüglich der Helligkeitsverhältnisse zu dieser Zeit ist zu sagen, dass während der Versuchszeit trübes und regnerisches Wetter vorherrschend war.

Die Untersuchung der Schälchen selbst wurde mit gewöhnlichem Nähragar vorgenommen.

Tabelle VII. **Versuche mit Aufschwemmungen von Schrägagarculturen von Staphylokokken.**

Versuch Nr. 1.			**Versuch** Nr. 2.			**Versuch** Nr. 3. (Parallelversuch.)				
35 ccm einer wässerigen **Aufschwemmung** verspritzt. Colonieenzahl **auf dem Control**-Agarschälchen **nach 12** Stunden ca. **250000**.			35 ccm einer Aufschwemmung in physiol. Kochsalzlösung verspritzt. Colonieenzahl auf dem Control-Agarschälchen nach 12 Stunden ca. **250000**.			15 ccm einer wässerigen Aufschwemmung verspritzt. Colonieenzahl auf dem Control-Agarschälchen nach 12 Stunden ca. **125000**. 1. Schälchen im zerstreuten Tageslicht aufbewahrt			2. Schälchen im Keller aufbewahrt	
Zeiten nach der Verspritzung	Resultat	Zahl der Staphylokokken-colonieen	Zeiten nach der Verspritzung	Resultat	Zahl der Staphylokokken-colonieen	Zeiten nach der Verspritzung	Resultat	Zahl der Staphylokokken-colonieen	Resultat	Zahl der Staphylokokken-colonieen
1 Stunde	+	ca. 250 000	1 Stunde	+	ca. 250 000	1 Stunde	+	ca. 125 000	∽	∽
12 Stunden	+	ca. 190 000	24 Stunden	+	ca. 170 000	24 Stunden	+	ca. 112 000	∽	∽
24 "	+	ca. 160 000	2 Tage	+	ca. 140 000	2 Tage	+	ca. 100 000	∽	∽
2 Tage	+	ca. 155 000	3 "	+	ca. 140 000	3 "	+	ca. 90 000	+	ca. 120 000
3 "	+	ca. 155 000	4 "	+	ca. 125 000	5 "	+	ca. 12 000	+	ca. 50 000
4 "	+	ca. 150 000	5 "	+	ca. 100 000	7 "	+	ca. 1 000	+	ca. 30 000
5 "	+	ca. 140 000	6 "	+	ca. 80 000	9 "	+	ca. 180	+	ca. 30 000
6 "	+	ca. 90 000	8 "	+	ca. 18 000	12 "	+	45	+	ca. 22 000
8 "	+	ca. 20 000	10 "	+	ca. 18 000	14 "	—	—	+	ca. 25 000
10 "	+	ca. 19 000	12 "	+	ca. 10 000	22 "	—	—	+	ca. 900
12 "	+	ca. 12 000	15 "	+	155	25 "	∽	∽	+	ca. 350
14 "	+	ca. 600	16 "	—	—	30 "	∽	∽	+	ca. 400
16 "	+	50	18 "	—	—	35 "	∽	∽	+	220
18 "	—	—	20 "	—	—	40 "	∽	∽	—	—
20 "	—	—				45 "	∽	∽	—	—

+ = positives Resultat, — = negatives Resultat, ∽ = eine Untersuchung wurde nicht vorgenommen.

Endlich sei noch erwähnt, dass in den zur Versprayung verwendeten Aufschwemmungen auch wieder Seidenfäden und Leinwandläppchen getränkt wurden, um die Lebensdauer der Staphylokokken zum Vergleiche unter diesen Umständen zu verfolgen.

Auch ein Theil einer wässerigen Aufschwemmung selbst wurde in einem Reagensglase mit Gummikappe versehen zwecks Untersuchung der Lebensdauer im Laboratorium gehalten.

In der vorstehenden Tabelle VII ist der Ablauf der Versuche mit Staphylokokken-Aufschwemmungen niedergelegt.

Zu den angeführten Versuchen sei noch bemerkt, dass auf denjenigen dem zerstreuten Tageslicht ausgesetzten Schälchen, auf welchen schliesslich nur noch wenige Colonieen zum Vorschein kamen, letztere vorzugsweise nahe dem Uebergangstheile der Bodenfläche in den Schalenrand lagen, eine Beobachtung, welche auch bei Versuchen mit anderen Mikroorganismen vielfach gemacht wurde. Erklärlich wird dieser Befund, wenn man bedenkt, dass die auf die umgekehrt stehenden Schalen von oben und von der Seite her auftreffenden Lichtstrahlen an der gekrümmten Fläche des Uebergangstheiles der Bodenfläche in den Rand des Schälchens eine Brechung erfahren, wodurch ein erheblicher Theil von Lichtstrahlen von vielen nahe dem Rande gelegenen Keimen abgelenkt wird.

Aus der Tabelle Nr. VII geht nun im Grossen und Ganzen hervor, dass die Lebensdauer der mit feinsten Tröpfchen verspritzten Staphylokokken unter Umständen, d. h. wenn das verspritzte Material von Aufschwemmungen von Staphylokokken herrührte, bis zu 16 Tagen beträgt.

Da in den verspritzten feinsten Tröpfchen auch kleinere Staphylokokkenhäufchen sich befanden, ist die lange Lebensdauer weniger überraschend.

Auch für die Versuche mit Staphylokokken ergab sich kein Unterschied bezüglich der Lebensdauer der verspritzten Keime, der etwa von der Beschaffenheit der Aufschwemmflüssigkeit abhängig wäre.

Der günstige Einfluss der mangelnden Belichtung zeigt sich in der über 35 Tage hin verfolgten Lebensdauer der Staphylokokken auf den im Keller befindlichen Schälchen.

An den im Laboratorium aufbewahrten, in den Aufschwemmungen getränkten Seidenfäden und Leinwandläppchen wurde eine durchschnittliche Haltbarkeit der Staphylokokken von annähernd 5 bezw. $3^1/_2$ Monaten beobachtet. Seidenfäden und Leinwandläppchen, welche in einem auf Agar gewachsenen Staphylokokkenrasen direct getränkt wurden, zeigen jetzt nach 6 Monaten noch Keimfähigkeit in Bouillon. Ebenso sind in der im

Laboratorium aufbewahrten wässerigen Aufschwemmflüssigkeit selbst jetzt nach 6 Monaten noch lebende Staphylokokken vorhanden.

Demnach ist die schon bei anderen Mikroorganismen hervorgetretene Gesetzmässigkeit hinsichtlich der Lebensdauer der Mikroorganismen auch für die Staphylokokken zu Tage getreten.

Um Staphylokokkenhäufchen bei den späteren Versuchen möglichst auszuschalten, wurden einige Versuche mit Bouillonculturen von Staphylokokken angestellt.

Es wurden zu dem Zwecke drei mit ca. 30 ccm Nährbouillon versehene Erlenmeyer-Kölbchen mit dem seither verwendeten Staphylokokkenstamm geimpft. Die 24 stündigen Culturen wurden energisch geschüttelt und durch eine dichte Asbestlage filtrirt.

Die in den filtrirten Culturen angefertigten Deckglaspräparate zeigten, dass die Staphylokokken meist einzeln, höchstens jedoch bis zu 6 bis 8 zusammenlagen.

Von der so vorbereiteten Cultur wurden kleine Mengen in der gewöhnlichen Weise verspritzt.

Um die Einwirkung einer Luft von sehr grosser und gleichmässiger Trockenheit auf das Absterben der Staphylokokken zu studiren, wurde ein Theil der Schälchen in einem Exsiccator über Schwefelsäure, bei einem anderen Versuche in einem Chlorcalcium-Exsiccator aufbewahrt.

Ferner wurde in einem Versuche nochmals der Einfluss mangelnder Belichtung auf die mit feinsten Tröpfchen verspritzten Staphylokokken verfolgt.

Zum Vergleiche wurden bei jedem der Parallelversuche ein Theil der Schälchen im Laboratorium belassen.

Unter denselben Bedingungen wie die Schälchen wurden auch jedes Mal die in den Bouillonculturen getränkten Seidenfäden und Leinwandstückchen gehalten.

Der Verlauf der Verspritzungsversuche mit Bouillonculturen von Staphylococcus pyogenes aureus ist aus der folgenden Tabelle VIII ersichtlich.

Aus den drei letzten Versuchen geht hervor, dass die mit feinsten Tröpfchen verspritzten pathogenen Staphylokokken im zerstreuten Tageslicht der Zimmerluft ausgesetzt ungefähr 10 Tage lebensfähig bleiben.

In den mit Aufschwemmungen von Schrägagarculturen vorgenommenen Versprayungen wurde eine Lebensdauer von ca. 16 Tagen constatirt. Doch handelte es sich hier vielfach um mitverspritzte grössere Staphylokokkenhäufchen.

Es erhellt aus diesem Unterschied wieder die Abhängigkeit der Lebensdauer der Mikroorganismen von der Zahl der angetrockneten Individuen.

Tabelle VIII. **Versuche mit Bacillenculturen von Staphylococcus pyogenes aureus.**

Versuch Nr. 4.			**Versuch Nr. 5.** (Parallelversuch.)					**Versuch Nr. 6.** (Parallelversuch.)						
20 ccm der 24 stündigen Cultur verspritzt. Colonieenzahl auf dem Control-Agarschälchen nach 12 Std. ca. **125 000.**			25 ccm der 24 stündigen Cultur verspritzt. Colonieenzahl auf dem Control-Agarschälchen nach 12 Std. ca. **140 000.**					20 ccm der 24 stündigen Cultur verspritzt. Colonieenzahl auf dem Control-Agarschälchen nach 12 Stunden ca. **130 000.**						
			1. Schälchen im Laboratorium aufbewahrt			2. Schälchen im Exsiccator über Schwefelsäure aufbewahrt		1. Schälchen im Laboratorium aufbewahrt			2. Schälchen im Exsiccator üb. Chlorcalc. aufbewahrt		3. Schälchen im Keller aufbewahrt	
Zeiten nach der Verspritzung	Resultat	Zahl der Staphylokokken-colonieen	Zeiten nach der Verspritzung	Resultat	Zahl der Staphylokokken-colonieen	Resultat	Zahl der Staphylokokken-colonieen	Zeiten nach der Verspritzung	Resultat	Zahl der Staphylokokken-colonieen	Resultat	Zahl der Staphylokokken-colonieen	Resultat	Zahl der Staphylokokken-colonieen
3 Stunden	+	ca. 75000	1 Stunde	+	ca. 130000	∽	∽	6 Stunden	+	ca. 100000	+	ca. 95000	∽	∽
9 „	+	ca. 55000	24 Stunden	+	ca 95000	+	190	3 Tage	∽	∽	+	ca. 50000	∽	∽
24 „	+	ca. 60000	36 „	+	ca. 90000	+	13	5 „	∽	∽	+	ca. 9000	∽	∽
2 Tage	+	ca. 40000	2 Tage	+	ca. 40000	—	—	8 „	+	ca. 500	+	ca. 2600	∽	∽
3 „	+	ca. 28000	3 „	+	ca. 38000	—	—	10 „	∽	∽	+	ca. 3800	∽	∽
4 „	+	ca. 9000	4 „	+	ca. 10000	—	—	12 „	∽	∽	+	ca. 5000	+	ca. 18000
5 „	+	ca. 3500	5 „	+	ca. 4000			14 „	∽	∽	+	ca. 3000	∽	∽
7 „	+	ca. 800	6 „	+	ca. 1900			20 „	∽	∽	+	ca. 1800	∽	∽
8 „	+	300	7 „	+	ca. 1100			25 „	∽	∽	×	×	+	ca. 6000
9 „	+	15	8 „	+	ca. 450			36 „	∽	∽			+	180
10 „	—	—	9 „	+	33			40 „	∽	∽			—	—
11 „	—	—	10 „	+	17									
Weitere Controlen	—	—	11 „	—	—									
			12 „	—	—									

+ = positives Resultat, — = negatives Resultat, ∽ = Prüfung nicht vorgenommen, × = keine Schälchen mehr vorhanden.

Was nun die Dauer der Lebensfähigkeit der mit feinsten Tröpfchen verspritzten Staphylokokken auf den in den Exsiccatoren aufbewahrten Schälchen angeht, so ist zu vermerken, dass auf den im Schwefelsäure-Exsiccator gehaltenen Schälchen schon nach 48 Stunden keine Staphylokokken mehr nachweisbar waren. Anfangs lag es nahe, dies rasche Absterben der Staphylokokken auf eine intensiv wirkende Austrocknung Seitens der Schwefelsäure zu beziehen. Da aber ferner festgestellt wurde, dass die mit feinsten Tröpfchen verspritzten und im Chlorcalcium-Exsiccator am zerstreuten Tageslicht aufbewahrten Staphylokokken mindestens 20 Tage lebensfähig bleiben, so konnte in einem hohen Grade von Trockenheit allein nicht die Ursache des raschen Absterbens über Schwefelsäure erblickt werden. Vielmehr erscheint es nach neueren Untersuchungen wahrscheinlich, dass die im Exsiccator über Schwefelsäure sich ansammelnden SO_3-Dämpfe, worauf Hr. Prof. Geppert mich in liebenswürdiger Weise aufmerksam machte, direct schädigend auf die darüber befindlichen, als Einzelindividuen vorhandenen Staphylokokken einwirken. Auffallend bleibt immerhin die lange Lebensdauer der Staphylokokken im Chlorcalcium-Exsiccator. Diese Erscheinung wurde noch weiterhin an Streptokokken und Diphtheriebacillen geprüft.

Nicht überraschend erscheint die lange Dauer der Lebensfähigkeit der verspritzten Staphylokokken, welche vor Licht im Keller geschützt waren, nämlich die Dauer von etwa 36 bis 40 Tage.

Was die Haltbarkeit der Staphylokokken an den in den Bouillonculturen getränkten Objecten betrifft, so betrug dieselbe bei der Prüfung in Bouillon für die im Laboratorium aufbewahrten Seidenfäden und Leinwandstückchen $5^1/_2$ bezw. $3^1/_2$ Monate. Die im Keller aufbewahrten Objecte beherbergten noch länger lebensfähige Staphylokokken. An den im Exsiccator über Chlorcalcium im Laboratorium gehaltenen Seidenfäden und Leinwandstückchen waren $6^1/_2$ bezw. 4 Monate vermehrungsfähige Staphylokokken anzutreffen.

Dass die Staphylokokken eine grosse Widerstandsfähigkeit gegen die schädigenden Einwirkungen der Aussenwelt besitzen, wird schon seit langer Zeit allgemein angenommen. Indess vermisse ich in der Litteratur eingehendere Angaben über die Dauer der Lebensfähigkeit von Reinculturen von Staphylokokken, angetrocknet an verschiedenen Objecten, wie Seidenfäden, Leinwandläppchen u. dergl.

Haegler[1] giebt an, dass Staphylokokken in eingetrocknetem auf Mullstückchen ausgebreiteten Eiter 56 bis 100 Tage lebensfähig bleiben.

---

[1] Haegler, Die chirurgische Bedeutung des Staubes. *Beitrag zur klinischen Chirurgie.* Bd. IX.

Ueber Befunde von Staphylokokken im Hospitalstaub berichten Solowjew[1] und Zieleniew.[2] Ferner gelang es Arens[3] öfters, durch Einimpfung von aufgefangenem Fabrikstaub Eiterungen bei Thieren hervorzurufen, in denen der Staphylococcus pyogenes aureus nachzuweisen war. Auf Grund des häufigen Befundes von Staphylokokken im Staube wird mit Recht eine verhältnissmässig grosse Lebensfähigkeit dieser Mikroorganismen vorausgesetzt.

Es kann daher nicht wundern, dass die mit feinsten Tröpfchen verspritzten Staphylokokken eine zwischen 10 und 16 Tagen schwankende Lebensdauer zeigen.

Versuche mit Streptokokken.

Betreffs der Herkunft des zu den Versuchen verwendeten Culturstammes ist zu vermerken, dass derselbe von einer sogenannten Streptokokkenangina herrührte. Von diesem Streptokokkenstamm wurden Bouillonculturen hergestellt. Nach 48 stündigem Wachsthum wurden dieselben kräftig geschüttelt und durch eine dichte Asbestlage filtrirt, um längere oder conglomerirte Fäden von der Verspritzung möglichst fernzuhalten.

Mit dem auf diese Weise gewonnenen Material wurden Anfangs Februar 1901 zwei Versuche angestellt.

Der zweite Versuch stellt einen Parallelversuch dar, in welchem die Untersuchung gleichzeitig auf das Verhalten der mit feinsten Tröpfchen verspritzten Streptokokken im Chlorcalcium-Exsiccator ausgedehnt wurde.

Es gelangten verschiedene Mengen der Bouillonculturen in der gewöhnlichen Weise zur Versprayung.

Die mit den Schälchen exponirten Deckgläschen zeigten nach ihrer Färbung, dass die Streptokokken mit den feinsten Tröpfchen meist zu zweien, manchmal als kurze Ketten von 3 bis 5, selten als solche von 10 und mehr Gliedern verspritzt wurden.

In einem Vorversuch wurde die Beobachtung gemacht, dass das für die Diphtherieversuche verwendete, mit einem Traubenzuckerzusatz versehene Wassermann'sche Serum-Agar unter dem Einflusse des Wachs-

[1] Solowjew, Bakterioskopische Untersuchungen des Staubes der Spitalzeughäuser. *Wratsch.* 1895. Nr. 12.

[2] Zieleniew, Ueber bakterielle Verunreinigung der Spitalgeräthe (Möbel). *Ebenda.* 1895. Nr. 13.

[3] Arens, Quantitative Staubbestimmungen in der Luft u. s. w. *Archiv für Hygiene.* 1894. Bd. XXI.

thums der Streptokokken opak weiss und daher für die Zählung der Colonieen ungeeignet wird. Diese Erscheinung dürfte von der durch den Traubenzuckerzusatz vermittelten starken Säurebildung und der dadurch bedingten Ausfällung des Serum-Albumins herrühren. Es wurde daher bei den folgenden Versuchen der Traubenzuckerzusatz weggelassen mit dem Erfolge, dass jetzt das Wassermann'sche Serum-Agar, welches einen guten Nährboden auch für Streptokokken darstellt, durchsichtig blieb.

Ueber die zur Zeit der Versuche herrschenden Witterungsverhältnisse ist nichts Besonderes zu vermerken.

Wie seither wurden auch in den zu den Verspritzungen vorbereiteten Bouillonculturen der Streptokokken wieder Seidenfäden und Leinwandstückchen getränkt. Ein Theil der Objecte wurde am zerstreuten Tageslicht frei im Laboratorium, der andere im Exsiccator über Chlorcalcium gehalten.

Ferner wurde eine kleine Menge der Bouilloncultur in einem Reagensglase mit Watte und Gummikappe versehen im Laboratorium aufbewahrt.

Aus der folgenden Tabelle IX ist der Verlauf der Verspritzungsversuche mit Streptokokken ersichtlich.

Aus den mit dem einen Streptokokkenstamm (Tabelle IX) vorgenommenen Versuchen geht also hervor, dass das Absterben dieser mit feinsten Tröpfchen verspritzten Streptokokken in annähernd denselben Zeiträumen erfolgt wie dies für Staphylokokken beobachtet worden ist.

Auf den im Keller gehaltenen Schälchen wurden natürlich noch länger lebende Streptokokken angetroffen.

Die Haltbarkeit der Streptokokken im Chlorcalcium-Exsiccator währte ähnlich wie bei den Staphylokokken etwa 5 Mal so lange als diejenige, welche sich auf die Dauer der Lebensfähigkeit der Streptokokken unter gewöhnlichen Bedingungen bezog.

Die Dauer der Keimfähigkeit der mit Streptokokkenbouilloncultur getränkten Seidenfäden und Leinwandstückchen wurde in Nährbouillon geprüft.

An den frei im Laboratorium aufbewahrten Seidenfäden und Leinwandstückchen hafteten $3^1/_2$ bezw. 2 Monate, an den im Chlorcalcium gehaltenen Objecten dagegen 5 bezw. 3 Monate lang lebensfähige Streptokokken.

Die grössere Haltbarkeit der an Seidenfäden und Leinwandstückchen angetrockneten Streptokokken im Exsiccator ist nicht auffallend, da, abgesehen von der merkwürdig langen Lebensdauer der Einzelindividuen im Exsiccator, dieselbe Erscheinung auch für andere Mikroorganismen von verschiedenen Autoren schon beobachtet ist.

Tabelle IX. **Versuche mit Bouillonculturen von Streptokokken.**

Versuch Nr. 1.			**Versuch Nr. 2.** (Parallelversuch.)					
15 ccm einer 48 stündigen Bouilloncultur verspritzt. Colonieenzahl auf dem Controlschälchen mit Nutroseserum-Agar nach 24 Stunden ca. **12500**.			30 ccm einer 48 stündigen Bouilloncultur verspritzt. Colonieenzahl auf dem Controlschälchen mit Nutroseserum-Agar nach 24 Stunden ca. **22000**.					
Schälchen am zerstreuten Tageslicht frei aufbewahrt.			1. Schälchen am zerstreuten Tageslicht frei aufbewahrt			2. Schälchen am zerstreuten Tageslicht im Chlorcalcium-exsiccator aufbewahrt		3. Schälchen im Keller frei aufbewahrt	
Zeiten nach der Verspritzung	Resultat	Zahl der Streptokokk.-Colonieen	Zeiten nach der Verspritzung	Resultat	Zahl der Streptokokk.-Colonieen	Resultat	Zahl der Streptokokk.-Colonieen	Resultat	Zahl der Streptokokk.-Colonieen
1 Stunde	+	ca. 12500	1 Stunde	+	ca. 22000	∾	∾	∾	∾
8 Stunden	+	ca. 8750	24 Stunden	+	ca. 15000	∾	∾	∾	∾
17 „	+	ca. 7500	48 „	+	ca. 8000	∾	∾	∾	∾
25 „	+	ca. 5600	3 Tage	+	ca. 4500	+	ca. 6250	∾	∾
48 „	+	ca. 4400	8 „	+	ca. 1100	+	ca. 2900	∾	∾
4 Tage	+	ca. 1800	11 „	—	—	∾	∾	∾	∾
6 „	+	ca. 1500	12 „	—	—	∾	∾	∾	∾
9 „	+	ca. 1250	14 „	—	—	+	ca. 3450	+	ca 5650
11 „	+	ca. 1250	18 „	×	×	+	ca. 8750	+	ca. 10000
14 „	+	ca. 1200	25 „			+	ca. 3750	+	ca. 5600
16 „	—	—	35 „			+	ca. 1250	+	ca. 100
17 „	—	—	38 „			×	×	+	ca. 100
Weitere Untersuchungen	—	—	45 „					—	—
			50 „					—	—

\+ = positives Resultat, — = negatives Resultat, ∾ = Untersuchung nicht vorgenommen, × = keine Schälchen mehr vorhanden.

Nach den Vorstellungen von Berckholtz[1] und Ficker[2] bildet sich bei dem relativ schnellen Eintrocknen im Exsiccator eine feste Hülle, welche die im Innern liegenden Bacillen gegen das Eintrocknen besonders gut schützt.

Was die Dauer der Lebensfähigkeit der Streptokokken in den zu den Verspritzungsversuchen benutzten Bouillonculturen selbst angeht, so konnten ca. 4 Wochen lang vermehrungsfähige Streptokokken in Nährbouillon mit positivem Erfolge übertragen werden.

Ueber die Lebensfähigkeit der Streptokokken überhaupt sind in der Litteratur verschiedene Angaben zu finden. Dieselben sind wohl hauptsächlich bedingt durch Abarten des Ausgangsmateriales.

v. Lingelsheim[3] findet, dass der Streptococcus das Trocknen schlecht verträgt, da das an Seidenfäden reichlich angetrocknete Material schon nach 14 Tagen bis 3 Wochen abgestorben ist.

Pasquale[4] kommt in seiner Arbeit zu dem Resultat, dass der Streptococcus auf Deckgläschen angetrocknet von wenigen Tagen bis zu vielen Wochen lebensfähig bleibe.

Nach Haegler[5] bleiben die Streptokokken 14 bis 36 Tage entwickelungsfähig.

Flügge[6] berichtet in seinem Lehrbuche, dass die Streptokokken gegen Austrocknung ziemlich resistent sind, dass sie dagegen in flüssigen Nährmedien, z. B. in Bouillon, nur ca. 5 bis 10 Tage lebensfähig bleiben. Das verhältnissmässig raschere Absterben der Streptokokken in Bouilloncultur ist auch in meinen Untersuchungen zu Tage getreten. Ob der Grund für diese Erscheinung nach Kurth[7] in dem Zutritt des Sauerstoffes der Luft oder in möglicher Weise auftretenden bakteriologischen Enzymen (Emmerich und Löw[8]) zu suchen ist, soll dahingestellt bleiben.

---

[1] Berckholtz, Untersuchungen über den Einfluss des Eintrocknens auf die Lebensfähigkeit der Cholerabacillen. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1889. Bd. V.

[2] A. a. O.

[3] v. Lingelsheim, Experimentelle Untersuchungen über morphologische, culturelle und pathogene Eigenschaften verschiedener Streptokokken. *Diese Zeitschrift.* 1891. Bd. X.

[4] Pasquale, Vergleichende Untersuchungen über Streptokokken. Ziegler's *Beiträge.* Bd. XII.

[5] A. a. O.

[6] Flügge, *Die Mikroorganismen.* 3. Aufl. 1896.

[7] Kurth, Ueber die Unterscheidung der Streptokokken und über das Vorkommen derselben, insbesondere des Streptococcus conglomeratus bei Scharlach. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1891. Bd. VII.

[8] Emmerich und Löw, Die künstliche Darstellung der immunisirenden Substanzen (Nucleasen-Immunproteïdine) und ihre Verwendung zur Therapie der In-

Soviel ist jedenfalls sicher, dass es Bouillonculturen von Streptokokken von ganz verschieden langer Ueberimpfbarkeit giebt, so dass dieser Umstand sogar als Vergleichsmerkmal gewisser Streptokokkenculturen herangezogen worden ist. So fand Kurth[1], dass, während eine Anzahl von Bouillonculturen mehrere Monate überlebend bleibt, andere schon nach 10 bis 20 Tagen nicht mehr überimpfbar sind.

Für die hohe Lebenszähigkeit mancher Streptokokkenarten spricht auch die Auffindung von Streptokokken in der Luft bezw. im Staub.

In dieser Richtung sind Versuche angestellt von Eiselsberg[2], Chatin[3], Haegler[4], Ruini[5], Solowjew[6], Zieleniew[7] und Ucke.[8]

Bezüglich der Resistenz des zu meinen Untersuchungen verwendeten Streptokokkenstammes, möchte ich der Ansicht zuneigen, dass es sich um eine äusseren Einflüssen gegenüber besonders widerstandsfähige Art handelte. Nach der Bezeichnung von Kurth dürfte dieselbe als Streptococcus conglomeratus anzusprechen sein.

Ich zweifle daher nicht, dass andere Streptokokkenarten mit feinsten Tröpfchen verspritzt eine erheblich kürzere Lebensdauer aufweisen. Immerhin geht aber aus den Versuchen die Thatsache hervor, dass manche pathogene Streptokokkenarten auch mit feinsten Tröpfchen verspritzt noch ungefähr 8 bis 14 Tage lebenfähig bleiben und daher während dieser Zeit noch eine Infectionsquelle darstellen können.

Ein an dieser Stelle eingeschalteter Versuch galt der Beantwortung der Frage, ob auch andere mit feinsten Tröpfchen verspritzten und im Exsiccator aufbewahrten Mikroorganismen, z. B. Diphtheriebacillen, ein ähnliches Verhalten bezüglich der Lebensdauer zeigen, wie das für Staphylokokken und Streptokokken festgestellt wurde.

fectionskrankheiten und zur Schutzimpfung an Stelle des Heilserums. *Diese Zeitschrift.* 1901. Bd. XXXVI.

[1] A. a. O.

[2] Eiselsberg, Nachweis von Erysipelkokken in der Luft chirurgischer Krankenzimmer. Langenbeck's *Archiv.* Bd. XXXV.

[3] Chatin, Contribution expérimentale à la recherche des streptocoques dans l'air atmosphérique. *Thèse de Lyon.* 1893.

[4] A. a. O.

[5] Ruini, Contributo sperimentale allo studio de contenuto batteriologico di un teatro chirurgico. *Riforma medica.* 1895.

[6] A. a. O.

[7] A. a. O.

[8] Ucke, Ein Beitrag zur Epidemiologie des Erysipels. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXI.

Im Juni 1901 wurde ein Verspritzungsversuch mit einer wässerigen Aufschwemmung von Diphtheriebacillen in der früher beschriebenen Weise vorgenommen.

Von den dem Keimstrom ausgesetzt gewesenen Schälchen wurde ein Theil frei im Laboratorium, ein anderer im Schwefelsäure-Exsiccator, ein dritter über Chlorcalcium und ein vierter Theil über Phosphorsäureanhydrid im Exsiccator aufbewahrt.

Alle 3 Exsiccatoren waren selbstverständlich im Laboratorium neben den der freien Luft zugänglichen Schälchen aufgestellt.

Vermerkt sei noch, dass während der Versuchsdauer an den schon ohnehin langen Tagen noch heiteres Wetter herrschte.

Auf dem mit Nutroseserum-Agar versehenen Controlschälchen wurden nach 24 Stunden ca. 100 000 Diphtheriecolonieen sichtbar.

Das Resultat des Versuches ist aus der folgenden Tabelle X zu ersehen.

Tabelle X.

Versuch bezüglich der Lebensdauer der mit feinsten Tröpfchen verspritzten Diphtheriebacillen bei der Aufbewahrung über verschiedenen Trocknungsmitteln im Exsiccator.

1. Schälchen an der freien Luft aufbewahrt			2. Schälchen im Schwefelsäureexsiccat. aufbewahrt		3. Schälchen im Chlorcalciumexsiccator aufbewahrt		4. Schälchen im Phosphorsäureanhydridexsicc. aufbewahrt	
Zeiten nach der Verspritzung	Resultat	Zahl der Diphtheriecolonieen	Resultat	Zahl der Diphtheriecolonieen	Resultat	Zahl der Diphtheriecolonieen	Resultat	Zahl der Diphtheriecolonieen
9 Stunden	+	ca. 250	+	11	+	ca. 2[illegible]0	+	ca. 320
21 „	—	—	—	—	+	ca. 170	+	ca. 500
35 „	—	—	—	—	+	ca. 150	+	ca. 430
60 „	—	—	—	—	—	—	+	ca. 50
80 „	—	—	—	—	—	—	+	ca. 10
96 „	—	—	—	—	—	—	—	—

+ = positives Resultat, — = negatives Resultat.

Aus der vorstehenden Tabelle geht zunächst hervor, dass die in der freien Zimmerluft aufbewahrten Schälchen schon nach 21 Stunden keine Diphtheriebacillen mehr enthielten.

Ueber Schwefelsäure waren die Diphtheriekeime schon nach einigen Stunden fast alle abgestorben.

Im Gegensatz dazu wurden die Diphtheriebacillen im Chlorcalcium-Exsiccator ca. 2, im Phosphorsäureanhydrid-Exsiccator sogar über 3 Tage conservirt.

Versuche mit Milzbrandsporen.

Seither waren nur sogenannte vegetative Bakterienformen bezw. solche, welche Dauerformen überhaupt nicht bilden, in den Kreis der Untersuchungen gezogen worden.

Von grossem biologischen Interesse ist aber die Untersuchung der Frage, ob die für die sporenfreien Bakterien gefundene Gesetzmässigkeit hinsichtlich ihres Absterbens in fein vertheiltem Zustande bei unmittelbarer Einwirkung von Licht und Luft auch für die sporenbildenden Mikroorganismen bezw. die Bakteriensporen selbst besteht oder nicht.

Für die Entscheidung der Frage wurden Milzbrandsporen gewählt. Es ist dies wohl die einzige Art pathogener Bakteriensporen, die noch eine gewisse praktische Bedeutung für die in Rede stehenden Untersuchungen beanspruchen kann.

Bei der immerhin nicht zu unterschätzenden Gefährlichkeit des Manipulirens gerade mit Milzbrandsporen beschränkte ich mich auf einen Versuch, welcher Anfangs April vorgenommen wurde.

Die verwendete Cultur war einige Wochen vor Anstellung desselben aus einer an Milzbrand gefallenen Kuh erhalten worden. Die Umwandlung der Kartoffelcultur in freie Sporen war etwa nach 10 Tagen bei 28° C. vollendet. Die Widerstandsfähigkeit dieses Sporenmaterials betrug 5 Minuten gegen strömenden Dampf von 100° C. Es handelte sich demnach um Milzbrandsporen von mittlerer Resistenz, da nach den bisherigen Erfahrungen die Widerstandsfähigkeit der Milzbrandsporen ausserordentlich schwankend ist und zwar zwischen 1 bis 12 Minuten gegen strömenden Dampf von 100° C.

Das zur Verspritzung benutzte Material wurde derart gewonnen, dass ein Milzbrandrasen einer Kartoffelscheibe auf der Höhe der Sporenentwickelung mit 70 ccm sterilen Wassers zerrieben und diese Aufschwemmung durch eine Asbestschicht filtrirt wurde.

In einem Theile dieses Materials wurden wiederum Seidenfäden und Leinwandstückchen getränkt, welche nun im Laboratorium stehen blieben.

Zur Versprayung gelangten 30 ccm in der gewöhnlichen Weise.

3 Stunden nach der Verspritzung wurden die Schälchen herausgenommen und ein jedes sorgfältig mit einem in 5 pro mille Sublimatlösung getränkten Wattebausch äusserlich abgewischt. Der grösste Theil der Schälchen verblieb am zerstreuten Tageslicht im Laboratorium, ein kleinerer wurde im Keller untergebracht.

Auf den exponirt gewesenen und nachher gefärbten Deckgläschen sah man fast nur einzeln liegende Milzbrandsporen.

Das Control-Agarschälchen war nach 12 Stunden mit einem Fadengewirr von jungen Milzbrandcolonieen bedeckt, so dass eine Feststellung der Colonieenzahl auch nicht annähernd möglich war.

Zu den von Zeit zu Zeit vorgenommenen Untersuchungen der Schälchen wurde Nähragar verwendet; die Schälchen blieben darauf 12 bis 24 Stunden im Brütschrank.

Der Verlauf des Versuches ist aus der Tabelle XI ersichtlich.

Tabelle XI.

Versuch mit einer Aufschwemmung von Milzbrandsporen in sterilem Wasser.

Die Colonieenzahl des Control-Agarschälchens ist wegen allzu grosser Dichtigkeit der confluirenden Colonieen nicht anzugeben.

1. Schälchen am zerstreuten Tageslicht aufbewahrt			2. Schälchen im Keller aufbewahrt	
Zeiten nach der Verspritzung	Resultat	Vermerk über die Menge der Milzbrandentwickelung auf den Schälchen	Resultat	Vermerk über die Menge der Milzbrandentwickelung auf den Schälchen
10 Tage	+	Dicht mit Milzbrandschleifen bedeckt.	∾	∾
3 Wochen	+	Zur Hälfte mit Milzbrandcolonieen bedeckt. Genaue Zahl wegen inniger Confluenz nicht anzugeben. ×	+	In ganzer Ausdehnung von Milzbrandschleifen bedeckt.
4 „	+	ca. 20 meist am Rande des Schälchens liegenden Colon. ⊕	+	Ein über den Boden ausgebreitetes Schleifengewirr.
6 „	+	6 Colonieen in der Mitte des Schälchens. Ausserdem befinden sich am Rande, die halbe Circumferenz desselben einnehmende Milzbrandschleifen.	+	Der ganze Boden d. Schälchens ist von Milzbrandcolonieen, schätzungsweise 2000—2500 Colonieen bedeckt.
8 „	+	ca. 6–8 nahe dem Rande des Schälchens gelagerte Colon.	∾	∾
10 „	—	—	∾	∾
10½ „	—	—	∾	∾
12 „	—	—	+	Das ganze Schälchen ist noch mit Milzbrandcolon. bedeckt.
			*	*

+ = positives Resultat, — = negatives Resultat, ∾ = keine Untersuchung vorgenommen. × = Von einer Colonie dieses Schälchens wurde etwas abgenommen und damit eine Maus inficirt. Am folgenden Tage war dieselbe an Milzbrand eingegangen. ⊕ = Gleichzeitig mit dieser Untersuchung wurde ein Schälchen mit ½ ccm physiol. Kochsalzlösung abgeschwemmt und die Spülflüssigkeit einer Maus subcutan einverleibt. Dieselbe erlag nach 48 Stunden einer Milzbrandinfection. * = Versuch für die im Keller aufbewahrten Schälchen noch nicht beendet.

Aus der vorstehenden Tabelle geht hervor, dass auch Milzbrandsporen in Anbetracht ihrer sonstigen hohen Widerstandsfähigkeit in der relativ kurzen Zeit, bei unserem Material, von ca. 10 Wochen absterben, vorausgesetzt, dass sie mit allerfeinsten Tröpfchen verspritzt dem zerstreuten Tageslicht und der freien Luft ausgesetzt sind.

Im Keller waren sie nach $^1/_4$ Jahr in grosser Menge lebensfähig und ein Ende ist zur Zeit des Abschlusses der Arbeit noch nicht abzusehen.

Ebenso ging von den im Laboratorium aufbewahrten Seidenfäden und Leinwandläppchen zu derselben Zeit noch eine sehr üppige Entwickelung aus, so dass auf eine weitere Untersuchung verzichtet wurde. Die lange, über Jahre sich erstreckende Keimfähigkeit von mit Milzbrandsporen getränkten Seidenfäden ist ja zur Genüge bekannt.

Durch das Ergebniss des mit Milzbrandsporen vorgenommenen Versuches ist der Beweis erbracht, dass wie die sporenfreien Bakterien, so auch die Dauerformen der Bakterien in einer verhältnissmässig kurzen Zeit dem Untergange verfallen, wenn sie im Zustande feinster Vertheilung dem Lichte und der Luft unmittelbar ausgesetzt sind.

Die Lebensdauer der mit feinsten Tröpfchen verspritzten Krankheitskeime im Hinblick auf die Wohnungsdesinfection.

Bei der relativ kurzen Dauer der Lebensfähigkeit der mit feinsten Tröpfchen verspritzten Krankheitskeime erhebt sich die Frage, ob bei den hier in Betracht kommenden Infectionskrankheiten eine Wohnungsdesinfection in demselben Umfange wie seither nothwendig ist oder nicht.

Es ist dabei nur die neuerdings namentlich in grösseren Städten viel in Aufnahme gekommene Wohnungsdesinfection mit Formaldehyd in's Auge gefasst.

Fast scheint es nun, als hätten wir seither einen unnöthigen Luxus bei der Wohnungsdesinfection entfaltet. Davon dürfte jedoch wohl kaum die Rede sein.

Fassen wir zunächst die Diphtherie in's Auge, die das Hauptcontingent bei den Wohnungsdesinfectionen darstellt, so könnte auf Grund der Versuchsergebnisse eine Desinfection des Bettes, der Wäsche und Gebrauchsgegenstände des Kranken genügend, eine Desinfection des Krankenzimmers aber überflüssig erscheinen.

Da jedoch beim Husten und Sprechen der Kranken nicht nur allerfeinste keimhaltige Tröpfchen, sondern gelegentlich auch grössere Keimbröckel verspritzt werden, so dürfte bei der längeren Lebensdauer der Keime in der Form dichterer Massen nur eine Desinfection des ganzen Raumes die wünschenswerthe Sicherheit gegen Neuinfectionen bieten.

Bei den übrigen Infectionskrankheiten dürfte aber eine Einschränkung der Desinfectionsmaassnahmen noch weniger am Platze sein.

So bei Scharlach und Masern, Pocken und Flecktyphus schon deshalb nicht, weil wir die Erreger dieser Infectionskrankheiten überhaupt noch nicht kennen.

Pestfälle werden bei der Grösse der Gefahr ein besonders gründliches Desinfectionsverfahren erheischen. Bei den übrigen noch in Betracht kommenden Infectionskrankheiten, der Lungenschwindsucht, der Wundrose und dem Kindbettfieber dürfte eine allgemeine Wohnungsdesinfection, abgesehen von der Desinfection besonderer Gegenstände im Dampf, nicht umgangen werden können.

Vor Allem nicht bei der Lungenschwindsucht, da es gerade bei dieser Krankheit zu einer reichlichen Ausstreuung der specifischen Erreger kommt und da sogar die mit feinsten Tröpfchen verspritzten Tuberkelbacillen eine Lebensfähigkeit von nicht zu unterschätzender Dauer, namentlich an weniger belichteten Stellen, zeigen.

Was die Wundrose und das Kindbettfieber betrifft, so zeichnen sich häufig die Erreger derselben nicht nur durch grosse Resistenz den natürlichen Desinficientien, des Lichtes und der Austrocknung, sondern auch gegenüber chemischen Desinfectionsmitteln, sogar gerade dem Formaldehydgas gegenüber, aus. Dies gilt besonders in soweit, als Staphylokokken in Frage kommen.

Da bekanntlich die Desinfection von staphylokokkenhaltigem Material auch mit einer der gebräuchlichen Formaldehyd-Desinfectionsmethoden häufig nicht gelingt, so lag die Frage nahe, ob dies auch für Staphylokokken in fein vertheiltem Zustande der Fall ist.

Es wurde zu dem Zwecke ein Versuch mit dem zu den früheren Versuchen benutzten Staphylococcus pyogenes aureus-Stamme der Art angestellt, dass die dicht mit staphylokokkenhaltigen Tröpfchen besprühten Schälchen (es wurden auf dem Controlschälchen ca. 100 Colonieen im Gesichtsfeld bei schwacher Vergrösserung gezählt) an verschiedenen Stellen eines zu desinficirenden Thierstalles aufgestellt wurden.

An diesen Stellen wurden gleichzeitig Seidenfäden, welche theils in der zur Verspritzung benutzten Bouilloncultur, theils in einem 24 stündigen auf Agar gewachsenen Staphylokokkenrasen getränkt waren, der Formaldehyddesinfection ausgesetzt. Ausserdem waren noch Milzbrandsporenfäden zum Vergleich mit aufgestellt.

Die Desinfection des Raumes wurde nach der Breslauer Methode und zwar nach der neuerdings von Flügge[1] angegebenen Vorschrift aus-

[1] *Klinisches Jahrbuch.* 1900. Bd. VII.

geführt. Hiernach sind für die Desinfection von 1 cbm Rauminhalt bei $3^1/_2$ stündiger Einwirkungsdauer des Formaldehyds 5 grm Formaldehyd zu Grunde gelegt.

Die folgende Tabelle XII giebt eine übersichtliche Zusammenstellung von dem Resultat des Versuches.

Tabelle XII.

Formaldehyd-Desinfectionsversuch mit Staphylokokken in Bezug auf die Abhängigkeit der desinfectorischen Wirkung von der Dichte des zu desinficirenden Materials.

Art der Aufbewahrung des Materials	Mit feinsten staphylokokkenhaltig. Tröpfchen besprühte Schälchen	In Staphylokokkenbouillon getränkte Seidenfäden	In Staphylokokkenrasen getränkte Seidenfäden (sehr dichte Beschaffenheit des angetrockneten Materials)	Milzbrandsporenfäden
In einer halbaufgezogenen Schublade	—	—	+	—
In einer Zimmerecke auf dem Fussboden	—	—	—	—
In einer Höhe von 3 m	—	+	+	—
Zwischen zwei dicht aneinanderstehenden Käfigen	—	—	+	—
In der Tiefe eines niedrigen Käfigs	—	+	+	+

+ = positives Resultat, — = negatives Resultat.

Dem Versuche zu Folge werden Staphylokokken, welche mit feinsten Tröpfchen verspritzt sind, mit Hülfe der Breslauer Methode auch an schwerer zugänglichen Stellen sicher abgetödtet.

Unsicher vernichtet wurden durch die Desinfection die Staphylokokken, welche mit Bouilloncultur an Seidenfäden angetrocknet wurden.

Alle in dem Staphylokokkenrasen selbst getränkten Seidenfäden bewahrten ihre Keimfähigkeit bis auf diejenigen, welche sich auf dem Fussboden in der Zimmerecke befanden. Im Gegensatz dazu wurden die Milzbrandsporenfäden nur an einer Stelle nicht desinficirt.

Die Aussaaten der Fäden wurden nach Abschwemmung derselben in Ammoniak auf Agar vorgenommen.

Es ist ja bekannt, dass die Formalindesinfection dem Staphylococcus pyogenes aureus gegenüber mangelhaft und unsicher ist und dass die sonst so widerstandsfähigen Milzbrandsporen viel leichter abgetödtet werden als viele Staphylokokkenstämme. Diese beiden Mikroorganismen verhalten

sich gegenüber der Einwirkung von Licht und Austrocknung einerseits und dem gasförmigen Formaldehyd andererseits gerade umgekehrt.

Während nämlich die Staphylokokken mit feinsten Tröpfchen verspritzt innerhalb 10 bis 14 Tagen absterben, bewahren die Milzbrandsporen in diesem Zustande ungefähr $2^1/_2$ Monate ihre Lebensfähigkeit. Andererseits sind Milzbrandsporen viel empfindlicher gegen Formaldehydgas als die Staphylokokken.

Da nun die goldgelben Staphylokokken, welche gegenüber der Formaldehydeinwirkung von allen sporenfreien Bakterien als die widerstandsfähigsten gelten, im Zustande feinster Vertheilung der Formaldehyddesinfection sicher erliegen, halte ich den Schluss für berechtigt, dass durch diese Desinfectionsmethode die vegetativen Formen der bekannten Infectionserreger, wenn sie mit feinsten Tröpfchen verspritzt sind, auch an schwerer zugänglichen Stellen s·cher abgetödtet werden.

Der Keimbelag der Wände und Decken unserer Wohnräume im Lichte vorstehender Versuche.

Einen indirecten Beweis für das verhältnissmässig rasche Absterben der mit feinsten Tröpfchen verspritzten Mikroorganismen möchte ich bis zu einem gewissen Grade noch in dem Ergebniss der folgenden Versuche erblicken.

Hinsichtlich des Absterbens der Keime in fein vertheiltem Zustande erschien die Frage wichtig, in welchem zahlenmässigen Verhältniss die an den oberen Theilen der Wände und der Decken der Wohnungen gefundenen sporenbildenden Bakterien zu den sporenfreien stehen. Die sporenfreien Bakterien mussten dabei wieder in Kokken und Bacillen geschieden werden, da jenen eine bedeutend längere Lebensfähigkeit als Einzelindividuen den früheren Versuchen zu Folge innewohnt.

Ich verfuhr daher so, dass ich 100 ^{qcm} grosse Flächen von Decken und oberen Theilen der Wände (über 2 ^{m} Höhe) mit sterilen Schwämmchen abwischte und diese auf Agarplatten ausstrich. Die Platten kamen dann auf 8 Tage in den Brütschrank von 28° C. und zwar deshalb so lange, um eine etwa eingetretene Sporenentwickelung in den Colonieen feststellen zu können. Die Colonieen wurden dann abgestochen und im hängenden Tropfen untersucht.

Erleichtert wurde diese mühsame Arbeit oft dadurch, dass ein Theil der oberflächlich gelagerten Colonieen schon makroskopisch oder bei schwacher Vergrösserung als gleichartig erkannt werden konnte.

Zu bemerken ist noch, dass die Zahl der Schimmel- und Hefecolonieen nicht notirt wurde.

Die auf vier verschiedene Räumlichkeiten ausgedehnten Untersuchungen haben nun etwa 65 Procent Kokkencolonieen (darunter etwa die Hälfte Sarcinecolonieen), 29 Procent sporenhaltige und etwa 6 Procent sporenfreie Bakteriencolonieen auf den Platten ergeben.

Dabei wurde festgestellt, dass die Zahl der von den Decken gewonnenen Bakteriencolonieen eine sehr spärliche war.

Um zu erfahren, wie viel Procent der Bakterienarten in der Dauerform der Sporen an den oberen Theilen der Wände und an den Decken haftete, wurde so vorgegangen, dass etwa 400 qcm grosse Flächen mit einem sterilen Schwämmchen abgerieben und dasselbe in 10 ccm sterilen Wassers ausgewaschen wurde. Die eine Hälfte der Waschflüssigkeit wurde nun sofort zu Gelatineplatten verarbeitet, die andere Hälfte 5 Minuten lang im Wasserbade von 70° C. gehalten und damit alsdann Gelatineplatten gegossen. Auf diese Weise wurde constatirt, dass ca. 23 Procent der Bakterienarten als Sporen an den Decken bezw. den oberen Theilen der Wände vorhanden waren.

Da die Versuche in verhältnissmässig geringer Zahl vorgenommen wurden, bin ich weit davon entfernt, denselben eine allgemeine Gültigkeit beimessen zu wollen. Immerhin stehen die Ergebnisse (verhältnissmässig viele Kokken und wenig sporenfreie Bacillen) durchaus im Einklang mit den in dieser Arbeit gewonnenen Versuchsresultaten.

II. Abschnitt.

Ueber die Dauer der Lebensfähigkeit von Mikroorganismen in der Form feinster keimhaltiger Stäubchen.

Unter den mit feinsten Tröpfchen verspritzten Mikroorganismen können nach dem Absitzen nur diejenigen zu einer sogenannten Luftinfection Veranlassung geben, welche auch im Zustande feinster Vertheilung, dem Licht und der Austrocknung ausgesetzt eine verhältnissmässig längere Lebensdauer zeigen, so der Tuberkelbacillus, der Staphylococcus pyogenes aureus und manche pathogene Streptokokken.

Von den übrigen untersuchten pathogenen Mikroorganismen dürfte auf diese Weise kaum eine Infection zu Stande kommen.

Es erhebt sich nun die Frage, wie lange von Seiten der in feinste Stäubchen zerfallenen trockenen infectiösen Partikel und Massen eine Infectionsgefahr besteht.

Diese feinsten Stäubchen werden, wie wir durch die Untersuchungen von Flügge wissen, nach dem Aufwirbeln schon durch Luftströme von 1 bis 4 mm pro Secunde transportirt. Allerdings sind zum Aufwirbeln

eines feinen Staubes Luftströme von mehreren Centimetern Geschwindigkeit erforderlich, wie sie aber beim Gehen, Fegen u. s. w. entstehen.

Die Frage nach der Ausbreitung von Infectionskrankheiten durch den in der Luft befindlichen Staub ist schon öfter in den Kreis der Untersuchungen gezogen worden.

So hat Germano[1] die Entscheidung darüber in der Weise herbeizuführen gesucht, dass er Staub mit Bouillonculturen vermischte, auf Petri'schen Schalen trocknen liess und von Zeit zu Zeit das angetrocknete Material auf lebensfähige Keime untersuchte. Wie Neisser mit Recht sagt, hat Germano auf diese Weise nur die Bedeutung der Staub-Contactinfection aufgedeckt. Keineswegs ist durch diese Versuche klargestellt worden, ob und inwieweit feinste infectiöse Stäubchen lebend transportirt werden können.

Diese Lücke hat Neisser[2] durch seine Arbeit über Luftstaubinfection auszufüllen gesucht. Er ging dabei so vor, dass er feinsten sterilisirten Actenstaub mit einer Aufschwemmung der zu untersuchenden Bakterienart inficirte und dann gründlich verrieb. Dieser Staub wurde aufgeschüttelt und ca. 80 cm bis 1 m weit entgegen seiner Schwere durch Luftströme von 1 bis 4 mm Geschwindigkeit fortgeführt. Was den Feuchtigkeitsgrad des Staubes angeht, so wurde er so gewählt dass eine Verstäubbarkeit des Materials noch möglich war. Der durch den Luftstrom transportirte Staub wurde alsdann aufgefangen und auf die Lebensfähigkeit der betreffenden Bakterien untersucht. Bakterienarten, welche unter diesen Versuchsbedingungen lebend aufgefangen wurden, sind im Neisser'schen Sinne verstäubbar, aber auch noch diejenigen, welche durch Luftströme von 1 cm pro Secunde über eine Strecke von etwa 80 cm in grosser Menge transportirt werden können.

Neisser beschäftigte sich demnach nur mit der Transportirbarkeit von Bakterien mit dem schwebenden Zimmerstaube im lebenden Zustande durch ganz minimale Luftströme, liess aber die Frage unberücksichtigt, wie lange feinste bakterienhaltige Stäubchen nach ihrem Niedersitzen lebensfähig bleiben.

Diese Frage erscheint aber vor Allem im Hinblick auf die Ausbreitung der Tuberculose von grosser Bedeutung.

Bei meinen Versuchen ging ich zunächst so vor, dass grössere Massen von getrockneten Reinculturen zerstäubt wurden und zwar wurde zu einer Reihe orientirender Versuche auch hier wieder der Bacillus prodigiosus gewählt.

---

[1] Germano, Die Uebertragung von Infectionskrankheiten durch die Luft. 1. Mittheilung. *Diese Zeitschrift.* 1897 Bd. XXIV.

[2] Neisser, Ueber Luftstaubinfection. *Ebenda.* 1898. Bd. XXVII.

Zerstäubungsversuche mit trockenem Prodigiosusmaterial.

Trockenzerstäubung von Prodigiosus im Apparate.

Die 8 Tage alten Beläge von zwölf Kartoffelscheiben wurden abgeschabt, auf Glasplatten in breiter Ausdehnung in nicht zu dünner Schicht aufgetragen und 24 Stunden an der Luft im Zimmer getrocknet.

Nach dieser Zeit war die Trocknung so vollkommen, dass die aufgebrachte Schicht zum Theil von selbst von der Glasplatte abgesprungen war. Der übrige Theil konnte leicht mit einem Scalpell von der Platte abgehoben werden.

Dieses trockene Material wurde darauf in einer Reibschale intensiv zerrieben und das so erhaltene feine Pulver in den Gummiball eines gewöhnlichen Zerstäubers für Insectenpulver eingefüllt.

Der Zerstäuber wurde mit dem wiederholt erwähnten Apparate in Verbindung gebracht.

In denselben wurden wieder eine Reihe leerer steriler Schälchen (von der Grösse von 50 mm im Durchmesser) neben einem mit Nähragar versehenen Controlschälchen eingestellt. Anstatt des seither benutzten notenpultartigen Gestelles wurde zwecks Vermeidung des Herabrutschens der niedergefallenen Prodigiosusstaubpartikel ein Gestell mit horizontaler Lagerfläche für die Schälchen verwendet. Auf das Gestell wurden noch einige mit einer dünnen Glyceringelatineschicht versehene Deckgläschen zwecks Festhaltung der aufgefallenen Keimstäubchen neben die leeren Schälchen gelegt.

Da es von Interesse war, zu erfahren, wie lange die gröberen, in der vorderen Abtheilung des Apparates sich schon niederlassenden Keimbröckel im Vergleich mit den in der hinteren Abtheilung des Kastens auffallenden feinsten Keimstäubchen lebenden Prodigiosus beherbergten, wurden auch in der vorderen Abtheilung leere sterile Schälchen neben einem mit Nähragar versehenen Controlschälchen aufgestellt.

In dieser Weise wurden zwei Verstäubungen und zwar die eine Anfangs, die andere Ende Februar 1901 vorgenommen.

Hervorgehoben sei, dass bei beiden Versuchen während der Zerstäubungsdauer von 15 Minuten nur 100 Liter Luft abgesaugt wurden. In der mittleren Abtheilung des Kastens konnten daher die Keimstäubchen mit einer Geschwindigkeit von höchstens nur 4 bis 5 mm fortbewegt worden sein.

2 Stunden nach Beendigung der Zerstäubung wurden die Objecte wieder aus dem Apparate entfernt. Bei einem der beiden mit Prodigiosus vorgenommenen Versuche wurde ein Theil sowohl der in der vorderen

wie in der hinteren Abtheilung des Apparates exponirt gewesenen Schälchen in dem Keller aufbewahrt. Die übrigen verblieben, wie gewöhnlich, im Laboratorium der diffusen Tagesbelichtung und der freien Luft ausgesetzt. Nur wurden diese Schälchen zwecks Fernhaltung verunreinigender Keime aus der Luft mit einer mit Stützen versehenen Glasscheibe so überdeckt, dass ein zwischen oberem Schalenrand und Glasscheibe bestehender kleiner Zwischenraum der Luft ungehinderten Zutritt gestattete.

Auf den in der hinteren Abtheilung des Apparates exponirt gewesenen glycerinirten Deckgläschen zeigten sich nach der Färbung zahlreiche verschieden grosse aus zusammengebackenen Prodigiosusbacillen bestehende Klümpchen. Der Durchmesser dieser runden oder polyëdrisch gestalteten Klümpchen betrug meist etwa $^1/_{100}$ mm, also ungefähr eben so viel wie bei den feinsten Tröpfchen. Indess waren auch viele unter $^1/_{100}$ mm im Durchmesser haltende, aber auch grössere bis etwa $^5/_{100}$ mm im Durchmesser fassende Keimstäubchen in die hintere Abtheilung des Apparates gelangt.

Was die Zahl der hier niedergefallenen Keimstäubchen angeht, so sei bemerkt, dass bei einem der beiden Versuche auf einem gefärbten Deckgläschen bei starker Vergrösserung in einem Gesichtsfelde (0·24 qmm gross) ca. 30 Keimstäubchen von den beschriebenen Dimensionen gezählt wurden. Es waren demnach auf ein Schälchen von 5 cm Durchmesser ca. 245 000 Keimstäubchen niedergefallen.

Auf dem Controlagarschälchen derselben Grösse kamen jedoch nur etwa 22 000 Colonieen zur Entwickelung. Demnach war nur etwa der elfte Theil der Keimstäubchen mit lebenden Prodigiosus im Moment des Auffallens auf die Schälchen behaftet. In Uebereinstimmung hiermit zeigten sich bei der mikroskopischen Zählung der Colonieen, welche auf den mit Nähragar versehenen Schälchen zur Entwickelung kamen, neben den Prodigiosuscolonieen oft noch zahlreiche röthlich gefärbte Partikel, offenbar kleinste Prodigiosusfarbstoffpartikel, an welchen keine lebenden Prodigiosuskeime mehr hafteten.

Die Prüfung der niedergefallenen Stäubchen auf Keimfähigkeit geschah nämlich in der Weise, dass die trockenen Schälchen mit Nähragar ausgegossen wurden.

Ueber den Verlauf der beiden Versuche giebt die folgende Tabelle XIII näheren Aufschluss.

Tabelle XIII. Versuche mit trocken zerstäubtem Prodigiosusmaterial im Apparate.

Versuch Nr. 1.

1. Schälchen der hinteren Abtheilung des Apparates. Colonieenzahl auf dem Control-Agarschälchen nach 48 Stunden bei 22° C. ca. 10000.			2. Schälchen der vorderen Abtheilung des Apparates. Colonieenzahl auf dem Control-Agarschälchen nach 24 Std. bei 22° C. enorm.	
Zeiten nach der Zerstäubung	Resultat	Zahl der Colonieen	Resultat	Zahl der Colonieen
6 Stunden	+	ca. 7500	∾	∾
18 „	+	ca. 5800	∾	∾
24 „	+	ca. 5000	∾	∾
30 „	+	ca. 5000	∾	∾
50 „	+	ca. 2500	∾	∾
3 Tage	+	ca. 200	∾	∾
4 „	+	ca. 100	∾	∾
5 „	+	ca. 70	∾	∾
7 „	+	ca. 30	+	ca. 5000
8 „	+	12	∾	∾
10 „	—	—	∾	∾
11 „	—	—	+	ca. 6000
20 „	∾	∾	+	ca. 20
22 „	∾	∾	+	ca. 35
25 „	∾	∾	+	8
26 „	∾	∾	—	—
28 „	∾	∾	—	—

Versuch Nr. 2.

	1. Schälchen der hinteren Abtheilung des Apparates. Colonieenzahl auf dem Control-Agarschälchen nach 48 Stunden bei 22° C. ca. 22000.				2. Schälchen der vorderen Abtheilung des Apparates. Colonieenzahl auf dem Control-Agarschälchen nach 24 Stunden bei 22° C. enorm.			
	a) Schälchen dem zerstreuten Tageslicht ausgesetzt.		b) Schälchen im Keller aufbewahrt.		a) Schälchen dem zerstreuten Tageslicht ausgesetzt.		b) Schälchen im Keller aufbewahrt.	
Zeiten nach der Zerstäubung	Resultat	Zahl der Colonieen	Resultat	Zahl der Colonieen	Resultat	Zahl der Colonieen	Resultat	Zahl der Colonieen
3 Tage	+	ca. 3750	∾	∾	∾	∾	∾	∾
5 „	+	ca. 1875	∾	∾	∾	∾	∾	∾
7 „	+	30	∾	∾	∾	∾	∾	∾
9 „	+	1	∾	∾	∾	∾	∾	∾
10 „	+	1	∾	∾	∾	∾	∾	∾
11 „	—	—	∾	∾	∾	∾	∾	∾
12 „	—	—	+	ca. 1250	+	ca. 9375	∾	∾
16 „	∾	∾	+	ca. 500	∾	∾	∾	∾
20 „	∾	∾	+	ca. 120	∾	∾	∾	∾
25 „	∾	∾	+	ca. 80	+	20	+	ca. 7000
30 „			—	—	+	26	∾	∾
40 „			—	—	—	—	+	ca. 5000
50 „							+	ca. 800
70 „							+	ca. 50
3 Monate							—	—

+ = positives Resultat, — = negatives Resultat, ∾ = keine Untersuchung vorgenommen.

Die Versuche Nr. 1 und 2 lehren jedenfalls, dass Prodigiosusstäubchen mit Luftströmen unter 1 cm Geschwindigkeit transportirt, nach ihrem Niedersitzen theilweise eine Lebensfähigkeit von ca. 8 Tagen bewahren.

Ferner zeigen die Versuche, dass die mit den genannten Geschwindigkeiten beförderten Stäubchen etwa dasselbe absolute Gewicht haben müssen wie die feinsten mit denselben Geschwindigkeiten transportirten Tröpfchen.

Wenn man nun bedenkt, dass das Gewicht eines oder nur einiger mit einem Wassertröpfchen verspritzten Keime im Vergleich zu dem viel grösseren Gewichte des Tröpfchens selbst verschwindend gering ist, so wird verständlich, dass bei gleichem Gewicht die trocken verstäubten Partikel mehr Einzelindividuen enthalten als die feucht verspritzten.

Da nun nach den geschilderten Versuchen die Lebensdauer irgend einer Bakterienart ganz wesentlich abhängig ist von der Zahl der zu einem Häufchen zusammengeballten Bakterien, so ist es leicht verständlich, dass die aus Hunderten von dicht an einander liegenden Bakterien bestehenden Stäubchen länger lebensfähige Keime enthalten müssen als die feinsten keimhaltigen Tröpfchen.

Der schädliche Einfluss der Belichtung auf die feinsten Keimstäubchen, im Vergleich mit dem conservirenden der mangelnden Belichtung, hat nichts Auffallendes. Es zeigen die vergleichenden Untersuchungen, dass im letzteren Falle die Prodigiosuskeimstäubchen ungefähr drei Mal so lange lebensfähige Keime enthalten.

Die gröberen in der vorderen Abtheilung des Apparates niedergefallenen Prodigiosuspartikel enthielten ebenfalls etwa drei Mal so lange als die feinsten Keimstäubchen unter den gleichen Bedingungen der Belichtung und der Austrocknung lebenden Prodigiosus.

Die mit gröberen Prodigiosuspartikeln behafteten, im Keller gehaltenen Schälchen, wiesen sogar noch nach 70 Tagen lebenden Prodigiosus auf, später allerdings nicht mehr.

Unzerkleinerte, trockene Prodigiosusmassen, welche im Laboratorium unter den gewöhnlichen Bedingungen aufbewahrt wurden, enthielten vollends $4^1/_2$ Monate lang lebensfähigen Prodigiosus.

Trockenzerstäubung von Prodigiosus unter Zuhülfenahme des Ventilators.

Es wurde im März 1901 zunächst ein Parallelversuch zu den früheren ebenfalls unter Zuhülfenahme des Ventilators vorgenommenen Verspritzungsversuchen mit Prodigiosusaufschwemmungen angestellt. Die Versuchsanordnung war ähnlich der damaligen bereits in der ersten Mittheilung beschriebenen, nur wurde der Versuch auf einen einzigen Raum beschränkt.

In demselben wurden offene Schälchen aufgestellt und zwar sowohl in der Mitte des Raumes auf einem Tisch, als auch in einer dunkleren Ecke. Neben den leeren Schälchen war auch ein mit Nähragar versehenes Schälchen und mehrere mit einer dünnen Glycerin-Gelatineschicht überzogene Deckgläschen zur Controle der Menge und der Beschaffenheit der niederfallenden Keimstaubpartikel exponirt.

Zu bemerken ist noch, dass die auf dem Tisch befindlichen Schälchen vor directer Besonnung durch einen Schirm von Pausleinwand geschützt waren. Im übrigen war der Raum durch drei grosse Laboratoriumsfenster hell belichtet. Die in der Ecke des Raumes aufgestellten Schälchen waren der directen Besonnung überhaupt nicht ausgesetzt.

Zur Beurtheilung der Vertheilung der Keimstäubchen im Raume waren wiederum an den verschiedensten Stellen Kartoffelscheiben ausgesetzt, so z. B. auf den Lambrequins, in Zimmerecken, Regalen u. s. w.

Zur Gewinnung einer genügenden Prodigiosusstaubmenge wurden die Beläge von 50 acht Tage alten Kartoffelculturen abgeschabt und in der beschriebenen Weise getrocknet und zerrieben. Die gewonnene feinpulverige Masse wurde nun von dem rotirenden Ventilator zerstäubt. Nach Beendigung der Zerstäubung wurde der Ventilator noch eine halbe Stunde laufen gelassen.

Alsdann wurde die Dauer der Schwebehaltung der Keimstäubchen in derselben Weise, wie in der ersten Mittheilung geschildert, verfolgt: Es fielen weitaus die meisten Keimstäubchen in der ersten halben Stunde nieder, von da ab nur noch wenige, und nach 3 Stunden war das Absitzen der Keimstäubchen überhaupt beendet. Das für das Absitzen der feinsten Keimstäubchen gefundene, annähernd gleiche Resultat wie für die feinsten Tröpfchen lässt wiederum erkennen, dass sowohl die feinsten Stäubchen wie die feinsten Tröpfchen ungefähr dasselbe absolute Gewicht besassen.

Was die Grösse der mittels der Deckgläschen aufgefangenen Keimstäubchen angeht, so schwankte dieselbe analog den Beobachtungen bei den im Apparate angestellten Versuchen zwischen $^{1}/_{100}$ bis $^{5}/_{100}$ ^{mm}. Stäubchen von letzterer Grösse waren aber entschieden in der Minderzahl.

Es wurde bei der Untersuchung der Deckgläschen die schon früher gemachte Beobachtung bestätigt, dass die Keimstäubchen an ihrer Peripherie sich in einzelne von dem Hauptconglomerat getrennten Bacillen auflösten. Dieser Befund dürfte so zu deuten sein, dass die auf die Glycerin-Gelatineschicht aufgefallenen Stäubchen etwas quellen und dadurch die an der Peripherie der Partikel befindlichen Bacillen abgelöst werden.

Was nun die Zahl der mit lebendem Prodigiosus behafteten niedergefallenen Keimstäubchen betrifft, so betrug dieselbe für die Fläche der

zu den Versuchen benutzten Schälchen von 5 cm Durchmesser berechnet ca. 1500.

Diese Colonieenzahl wurde nicht nur für die auf den Tisch aufgestellten Controlschälchen, sondern auch in der gleichen Weise für die an den verschiedensten Stellen des Raumes exponirten Kartoffelscheibchen ermittelt.

Hier wurde ebenso wie bei den Verspritzungsversuchen mit flüssigem Prodigiosusmaterial eine ausserordentlich gleichmässige Vertheilung der ausgestreuten Keime constatirt.

Auf verschiedene Weise wurde nun die Lebensdauer der ausgestreuten feinsten Prodigiosus-Keimstäubchen untersucht:

Die auf dem Tisch und in der Ecke aufgestellten Schälchen wurden in erster Linie zur Untersuchung herangezogen. Dieselben wurden ca. 5 Stunden nach Beendigung der Zerstäubung zwecks Fernhaltung von Verunreinigungen mit einer Glasscheibe so bedeckt, dass die Luft ungehinderten Zutritt hatte. Die Untersuchung der Schälchen selbst wurde wieder mit Nähragar vorgenommen.

Der Verlauf der mit den Schälchen vorgenommenen Untersuchungen ist aus der folgenden Tabelle XIV ersichtlich.

Tabelle XIV.

Versuch mit trocken zerstäubtem Prodigiosusmaterial unter Zuhülfenahme des Ventilators.

Colonieenzahl auf dem Control-Agarschälchen nach 48 Stunden bei 22° C. ca. 1500.				
1. Schälchen auf dem Tisch am zerstreuten Tageslicht aufbewahrt.			2. Schälchen in einer dunkleren Zimmerecke aufbewahrt.	
Zeiten nach der Zerstäubung	Resultat	Zahl der Colonieen	Resultat	Zahl der Colonieen
3 Stunden	+	ca. 1375	∽	∽
1 Tag	+	ca. 625	∽	∽
2 Tage	+	ca. 300	∽	∽
3 „	+	ca. 50	∽	∽
4 „	+	ca. 45	∽	∽
7 „	+	25	∽	∽
9 „	+	10	+	ca. 300
11 „	+	8	+	ca. 100
14 „	+	1	∽	∽
16 „	—	—	∽	∽
18 „	—	—	+	30
20 „			+	15
28 „			+	8
35 „			+	4
40 „			—	—

+ = positives, — = negatives Resultat, ∽ = keine Untersuchung vorgenommen.

Nach Ausweis der vorstehenden Tabelle wurden also mit Hülfe des Ventilationsstromes Prodigiosus-Keimstäubchen in den Raum des Instituts transportirt, welche ungefähr eben so lange ihre Keimfähigkeit bewahrten wie die bei den vorausgehenden Versuchen in die hintere Abtheilung des Apparates gelangten Stäubchen.

Die Untersuchung auf lebenden Prodigiosus wurde aber noch in der Weise vorgenommen, dass die durch Kehren des Fussbodens des betreffenden Raumes und durch Abwischen der Gegenstände mittels eines Scheuertuches emporgewirbelten Staubpartikel auf gleichzeitig an den verschiedensten Stellen des Raumes exponirten Kartoffelscheiben auffallen mussten. Der Staub des Raumes wurde dabei gleichmässig an allen Stellen aufgewirbelt, so auch an wenig belichteten Stellen desselben. Auf diese Weise wurde über 14 Tage hin lebender Prodigiosus in den Räumen nachgewiesen.

Schliesslich wurde auch noch durch Abtupfen verschiedener Stellen des Raumes mittels Schwämmchen und Ausstreichen derselben auf Kartoffeln der Lebensfähigkeit des Prodigiosus nachgegangen. Die beispielsweise 14 Tage nach der Zerstäubung der Art angestellten Untersuchungen ergaben folgendes: Von zwei 100 qcm grossen wenig belichteten Stellen des Raumes wurde auf den zugehörigen Kartoffelscheiben eine dichte Aussaat von Prodigiosus erzielt. Dagegen wurde zu derselben Zeit von 100 qcm der Fussbodenmitte nur noch zwei Prodigiosuscolonieen, von zwei anderen ebenfalls gut belichteten Stellen (so auch vom Tisch) keine Prodigiosuscolonie mehr zur Entwickelung gebracht. Vor diesem Termin war auf diese Weise überall noch lebender Prodogiosus zu finden. Nach 18 Tagen wurde nach dieser Methode nur noch an wenig belichteten Stellen des Raumes und auch hier spärlich Prodigiosus nachgewiesen. Durch Aufwirbeln des Staubes in dem Raume durch Kehren und Abwischen konnte zu dieser Zeit überhaupt kein lebender Prodigiosus mehr gefunden werden.

Es war nun von Interesse, zu erfahren, ob durch Luftbewegungen, wie sie z. B. in verschiedenen Temperaturverhältnissen begründet sind, eine Verschleppung von feinsten in der Luft schwebenden Keimstäubchen vermittelt wird. Zweckentsprechende Versuchsbedingungen waren wieder in der Ventilationsanlage des hygienischen Instituts dadurch gegeben, dass in den in die Wände eingebauten Ventilationsschächten die Heizkörper der Niederdruckdampfheizung untergebracht waren.

Zu dem Versuche selbst wurde die gleiche Menge feinen Prodigiosuspulvers, wie bei dem letzten Versuche in der Frischluftkammer, vor dem Flügelradventilator zerstäubt, ohne dass derselbe in Bewegung gesetzt wurde.

Während des Versuches betrug die Aussentemperatur 10° C., die Temperatur der Räume des Instituts 18° C. Es sollte nun beobachtet werden, ob die durch diese Temperaturdifferenz bedingte Luftbewegung zu einem Transport der feinsten Keimstäubchen von der Frischluftkammer bis in die höher gelegenen Räume genügt.

In der That waren nach zwei Tagen die im Obergeschoss an verschiedenen Stellen eines Raumes aufgestellten Kartoffelscheiben von zahlreichen Prodigiosuscolonieen bedeckt. Die Vertheilung im Raume war auch diesmal annähernd gleichmässig.

Die Colonieenzahl auf den Kartoffelscheiben betrug nämlich durchgehends etwa 200.

Die Dauer der Lebensfähigkeit der in den Räumen vertheilten Prodigiosusstäubchen wurde bei diesem Versuche nicht verfolgt.

Jedoch sollte eine 14 Tage nach der Zerstäubung vorgenommene Untersuchung feststellen, ob sich zu dieser Zeit noch lebender und leicht losreissbarer Prodigiosusstaub in den Schächten der Ventilationsanlage befände. Es wurden zu dem Zwecke in einem Raume Kartoffelscheiben in Schalen an verschiedenen Stellen exponirt. Darauf wurde der Ventilator eine halbe Stunde in Thätigkeit gesetzt und die Schalen noch ca. eine Stunde offen stehen gelassen.

Nach Verlauf von zwei Tagen war das interessante Resultat zu verzeichnen, dass durschschnittlich noch fünf Prodigiosuscolonieen auf einer Scheibe zur Entwickelung gekommen waren.

An dieser Stelle sei daran erinnert, dass bei den Verspritzungsversuchen mit Aufschwemmungen von Prodigiosus nicht nur 24 Stunden, sondern sogar schon sieben Stunden nach Beendigung der Verspritzung durch den Ventilator kein lebender Prodigiosuskeim mehr zu Tage gefördert werden konnte.

Wenn nun auch sieben Stunden nach Beendigung der Verspritzung wohl noch nicht aller Prodigiosus in den vor Licht immerhin geschützten Schächten abgestorben war, so konnte er jedoch vermuthlich deswegen nicht nachgewiesen werden, weil die mit feinsten Tröpfchen verspritzten Mikroorganismen ziemlich fest an ihrer Unterlage haften. Im Gegensatz dazu liegen die Keimstäubchen nur locker ihrer Unterlage an und werden deshalb durch verhältnissmässig geringe Luftströme leicht losgerissen.

Durch diesen Umstand erscheinen natürlich infectiöse Staubpartikel in noch bedenklicherem Lichte.

Die Zerstäubungsversuche mit trockenem Prodigiosusmaterial sollten Gesichtspunkte geben für die Beurtheilung der Dauer der Infectionsgefahr Seitens infectiöser Staubpartikel, insbesondere von tuberkelbacillenhaltigem Staub.

Für die Versuche mit infectiösen Stäubchen musste begreiflicher Weise eine besondere Versuchsanordnung getroffen werden, welche die Gefahr für den Experimentirenden und seine Umgebung möglichst ausschloss.

Ein anschauliches Bild von der ganzen Versuchsanordnung giebt die folgende Skizze (s. Fig. 2).

Fig. 2. **Apparat zum Auffangen feinster keimhaltiger Stäubchen.**

a Doppelgebläse, *b* leere Flasche, *c* Schüttelflasche, *d* Kasten mit beiden Zwischenwänden *e* und dem Drahtnetz *f*, *g* leere Flasche, *h* mit Sublimat versehene Waschflasche.

Zwecks Gewinnung von feinstem Sputumstaub ist nun folgendermaassen zu verfahren:

Das mit grobem Quarzsand vermischte Sputum wird nach völliger Trocknung in eine hohe mit doppelt durchbohrtem Gummipfropf versehene Flasche *c* gebracht. In letzterem stecken zwei rechtwinkelig gebogene Glasröhren, an denen sich kurze, mit Klemmschrauben verschlossene Gummischläuche befinden.

Durch kräftiges Schütteln der Flasche wird nun eine Zerkleinerung des an den Quarzkörnern anhaftenden Sputums in Staubpartikeln bewerkstelligt.

Nun gilt es, von diesen die allerfeinsten auf Schälchen aufzufangen. Zu dem Zwecke wird der in der Flasche befindliche Staub durch ein Doppelgebläse in einen kleinen Apparat *d* gedrückt, welcher ein Auffangen von allerfeinsten Stäubchen ermöglicht. Dieser Apparat ist im Princip dem grossen zu den Verspritzungsversuchen benutzten Apparate nachgeahmt. Der kleine Apparat ist 30 ^{cm} lang, 20 ^{cm} hoch und 20 ^{cm} breit. Er zerfällt durch ein in einem Abstand von 12 ^{cm} von der Vorderfläche senkrecht angebrachtes engmaschiges Drahtnetz *f* in zwei Haupttheile.

Der vordere Theil ist ganz aus verzinntem Eisenblech (Weissblech) hergestellt und ist durch zwei in einem Abstande von 4 ^{cm} eingelassenen

Zwischenwände *e* in drei Abtheilungen getheilt. Die vordere Zwischenwand endigt $2^1/_2$ cm oberhalb des Bodens, die hintere ist $2^1/_2$ cm von der Decke entfernt.

Der in den Apparat eingepresste Keimstrom wird dadurch gezwungen, einen Zickzackweg einzuschlagen. Bei dieser Einrichtung ist zu erwarten, dass die grösseren Stäubchen schon in den beiden ersten Abtheilungen sich absetzen.

Gröbere Stäubchen werden auf jeden Fall schliesslich von dem Drahtsieb *f* aufgehalten. Dasselbe besteht aus feinster Broncegaze von einer Maschengrösse von $^1/_{16}$ qmm im Lichten.

Erst hinter diesem feinen Drahtnetz waren die zur Aufnahme der feinsten Stäubchen bestimmten Schälchen aufgestellt.

Der hinter dem Drahtnetz befindliche Theil des Apparates hat eine Grösse von 20 cm im Cubus. Seine Wände bestehen ganz aus Glas, um dem Lichte ungehinderten Zutritt zu gestatten.

Zu erwähnen ist noch, dass die Glaswand einer Seite nur die obere Hälfte einnimmt, die untere Hälfte dagegen offen ist, um von hier aus die Schälchen einsetzen und herausnehmen zu können. Die Oeffnung konnte aber leicht durch eine Glasplatte verschlossen werden, die in einen Rahmen von feuchten Wattestreifen zwecks sicherer Abdichtung eingesetzt wurde.

In der hinteren Abtheilung des Apparates konnten bequem 9 Schälchen von der Grösse von 5 cm im Durchmesser aufgestellt werden.

Um etwaige von der Schüttelflasche her zurückströmende Keime aufzufangen, wurde noch eine leere kleine Pulverflasche *b* zwischen Doppelgebläse *a* und Schüttelflasche *c* eingeschaltet.

Ferner befanden sich noch zwei Pulverflaschen hinter dem Apparate. Die letzte *h* diente dazu, die den Apparat verlassenden Keimstäubchen in Sublimatlösung unschädlich zu machen. Eine vor dieser eingeschaltete leere Flasche *g* sollte ein etwaiges Zurückströmen von Sublimatlösung direct in den Apparat verhindern.

Es ist noch zu betonen, dass die Schälchen während der ganzen Versuchsdauer in dem Kasten verblieben, da ja das zerstreute Tageslicht und nach Entfernung der Glasplatte auch die Luft ungehindert einwirken konnte. Nur zum Zwecke der Untersuchung wurden die Schälchen herausgenommen. Selbstverständlich wurden sie alsdann äusserlich mit in Sublimatlösung getränkter Watte abgerieben.

Was die Desinfection des ganzen Apparates angeht, so wurde der Kasten selbst in einem besonders dafür construirten Dampftopf, die Flaschen ebenfalls im Dampf, das Uebrige in Sublimatlösung desinficirt.

Versuch mit einem mit Prodigiosus vermischten und dann getrockneten bronchitischen Sputum.

Um die Brauchbarkeit der vorstehend geschilderten Versuchsanordnung zu prüfen, wurde zunächst ein Versuch mit trockenem tuberkelbacillenfreiem Sputum, dem eine gewisse Menge Prodigiosuscultur zugesetzt war, angestellt.

Im Einzelnen wurde so verfahren, dass 100 ccm bronchitischen Sputums mit einem fünf Tage alten Prodigiosusbelag einer Kartoffelscheibe innig vermischt wurde. Das röthlich gefärbte Sputum wurde darauf mit 100 ccm groben Quarzsandes vermischt und flach ausgebreitet. Das auf diese Weise vorbereitete Material wurde alsdann bei 22° C. vor Licht geschützt getrocknet. Nach fünf Tagen war die Trocknung so weit gediehen, dass mit dem Versuche begonnen werden konnte.

Der mit dem Lungenauswurf behaftete grobe Quarzsand wurde in die Schüttelflasche eingefüllt. Während des darauffolgenden Schüttelns waren natürlich die an den Glasröhren befindlichen Schläuche fest zugeklemmt.

Nachdem durch kräftiges minutenlanges Schütteln reichlicher Staub in der Flasche entstanden war, wurde die Verbindung mit dem Kasten rasch hergestellt und sofort durch das Doppelgebläse die stauberfüllte Luft der Flasche in den Kasten hinübergedrückt.

In letzterem befanden sich acht leere Schälchen von einem Durchmesser von 5 cm und zur Feststellung der Zahl der niedergefallenen, mit lebendem Prodigiosus behafteten Stäubchen ein mit einer Kartoffelscheibe versehenes gleichgrosses Schälchen.

Es soll an dieser Stelle gleich bemerkt werden, dass die auf den Zeitpunkt des Absterbens des in den Sputumstäubchen enthaltenen Prodigiosus gerichteten Untersuchungen diesmal nicht mit Nähragar, sondern durch Abdrücken der Schälchen mit Kartoffelscheibchen vorgenommen wurden. Auf diese Weise waren die Prodigiosuscolonieen leichter von anderen Colonieen zu unterscheiden.

Neben den Schälchen waren noch zwei mit Glyceringelatine bestrichene Deckgläschen exponirt, um über die Art und Grösse der niedergefallenen Stäubchen ein Urtheil gewinnen zu können.

Letztere hatten ungefähr dieselbe Grösse wie diejenigen, welche bei den früheren Zerstäubungsversuchen von trockenem Prodigiosusmaterial in der hinteren Abtheilung des grossen Apparates aufgefangen wurden. Ein Beweis dafür, dass in dem kleinen Apparate ungefähr dieselben Geschwindigkeiten zur Beförderung der feinsten Stäubchen wirksam gewesen sein mussten.

Ueber die Beschaffenheit der Sputumstäubchen selbst ist nach Ausweis der gefärbten Präparate zu sagen, dass in vielen aus den trockenen Mucinmassen bestehenden Stäubchen zerstreut liegende Bacillen von der Form und Grösse der Prodigiosusbacillen beobachtet wurden. Das frisch untersuchte Sputum enthielt überhaupt sehr wenig Mikroorganismen.

Ueber die Dauer der Lebensfähigkeit der in den feinsten Sputumstäubchen enthaltenen Prodigiosusbacillen giebt die folgende Tabelle XV Aufschluss.

Tabelle XV.

Zerstäubungsversuch eines mit Prodigiosus vermischten und dann getrockneten bronchitischen Sputums.

Colonieenzahl
auf dem Control-Kartoffelscheibchen nach 30 Stunden bei 22° C.
ca. 1100 (Lupenzählung).

Zeiten nach der Zerstäubung	Resultat	Zahl der Prodigiosus-Colonieen
1 Tag	+	ca. 90
2 Tage	+	43
3 „	+	28
4 „	+	9
5 „	—	—
6 „	—	—

+ = positives Resultat, — = negatives Resultat.

Aus all den vorstehenden, mit trockenem Prodigiosusmaterial vorgenommenen Zerstäubungsversuchen ergiebt sich das Resultat, dass Prodigiosus in der Form feinster Stäubchen nicht nur lebend über grössere Strecken hin durch Luftströme, wie sie in Zimmern gewöhnlich vorkommen, verschleppt wird, sondern dass er sich nach dem Niedersitzen in Form feinster Stäubchen über einige Tage lebensfähig erhält.

Neisser[1] lässt die Frage offen, ob der Bacillus prodigiosus als im hygienischen Sinne verstäubbares Bacterium gelten kann, d. h. ob er, durch den schwebenden Luftstrom getragen, Pathogenität vorausgesetzt, neue Infectionen hervorrufen könnte. Dafür müsste nach seiner Ansicht sein Verhalten bei 4 bis 6 mm erwiesen sein.

Das Ergebniss meiner Versuche lässt ausser Zweifel, dass der Prodigiosus wirklich unter die verstäubbaren Bakterien zu rechnen ist.

Die Versuche haben dargethan, dass durch die unter gewöhnlichen Verhältnissen vorkommenden Luftströme Stäubchen von solcher Grösse

[1] A. a. O.

transportirt werden können, welche über mehrere Tage hin lebenden Prodigiosus beherbergen.

Sind die Prodigiosusbacillen in geringerer Dichte in den Stäubchen enthalten, wie z. B. in den prodigiosusbacillenhaltigen Sputumstäubchen, so sinkt auch die Lebensdauer der eingeschlossenen Keime.

Immerhin muss nothwendiger Weise auch in diesem Falle der Prodigiosus eine grössere Lebensfähigkeit als mit feinsten Tröpfchen verspritzt zeigen, da um die Bakterien eine von dem Sputum herstammende schützende Hülle sich befindet.

Indess scheinen, gleich grosse Stäubchen vorausgesetzt, die ganz aus Bakterien derselben Art zusammengesetzten Stäubchen den im Innern derselben gelegenen Keimen einen besseren Schutz zu bieten als Stäubchen, bei denen die Bakterien in einem anderen Material eingeschlossen sind.

Die verhältnissmässig längere Lebensdauer der Prodigiosusbacillen in den Sputumstäubchen im Vergleich mit der kurzen Dauer der Lebensfähigkeit der mit feinsten Tröpfchen verspritzten Prodiogusbacillen dürfte wohl zu dem Schlusse berechtigen, dass die aus eingetrocknetem tuberkulösen Lungenauswurf hervorgegangenen feinsten Staubtheilchen die eingeschlossenen Tuberkelbacillen länger lebensfähig erhalten, als dies durch die obigen Untersuchungen für die mit feinsten Tröpfchen verspritzten Tuberkelbacillen festgestellt ist.

Leider konnten Versuche, die der Entscheidung dieser wichtigen Frage dienten, aus äusseren Gründen nicht mehr vorgenommen werden.

Dagegen sind noch zwei Versuche mit einer anderen pathogenen Bakterienart, nämlich dem Staphylococcus pyogenes aureus in dieser Richtung angestellt worden, welche ebenfalls geeignet sein dürften, die für die tuberkelbacillenhaltigen Stäubchen aufgestellte Behauptung zu stützen.

Zerstäubungsversuche mit getrockneten Staphylokokkenculturen.

Zu diesen Versuchen wurde wieder der schon bei den Verspritzungsversuchen verwendete Staphylococcus pyogenes aureus-Stamm herangezogen.

Die vier Tage alten Beläge zwölf alkalisirter Kartoffelscheiben wurden abgeschabt auf einer Glasscheibe ausgebreitet und drei Tage bei Zimmertemperatur vor Licht geschützt getrocknet.

Zur Herstellung eines feinen Pulvers musste das Material mit Quarzsand in einer Reibschale zerrieben werden.

Die Hälfte der so gewonnenen Masse wurde in eine Pulverflasche gebracht und in den kleinen Apparat hinein zerstäubt. In demselben befanden sich acht leere Schälchen neben einem mit Nähragar ver-

sehenen Controlschälchen und einem mit Glyceringelatine überzogenen Deckgläschen.

Auf letzterem wurden nach der Zerstäubung bei starker Vergrösserung etwa 40 Kokkenhäufchen im Gesichtsfeld gezählt. Dieselben waren von verschiedener Grösse, überschritten jedoch nicht den Durchmesser von $^{5}/_{100}$ mm.

Das mit Nährагar versehene Controlschälchen war nach 12 Stunden so dicht mit confluirenden Staphylokokkencolonieen bedeckt, dass eine genaue Angabe der Colonieenzahl nicht möglich ist.

Es bedarf wohl kaum der Erwähnung, dass der die Schälchen enthaltende Apparat dem zerstreuten Tageslicht und der freien Luft während der Versuchsdauer ausgesetzt blieb.

Innerhalb der ersten 10 Tage nach der Zerstäubung wurden bei den mit Nähragar vorgenommenen Untersuchungen zahlreiche Staphylokokkencolonieen gefunden. Unter stetiger Abnahme der Colonieenzahl wurden nach 22 Tagen noch 200 Colonieen auf einem Schälchen gezählt. Nach 28 bezw. 30 Tagen kamen keine Staphylokokkencolonieen mehr auf den Schälchen zur Entwickelung.

Darauf wurde ein zweiter Versuch mit Staphylokokken in der nämlichen Weise angestellt.

Bei demselben wurden 10 Tage nach der Zerstäubung etwa 8000, nach 20 Tagen etwa 500 und nach 25 Tagen etwa 180 Staphylokokkencolonieen auf den untersuchten Schälchen gezählt. Nach 30 Tagen waren jedoch keine lebenden Staphylokokken mehr zu finden.

Aus den beiden Ursachen geht demnach hervor, dass auch der Staphylococcus pyogenes aureus in der Form feinster Stäubchen länger lebensfähig bleibt, als wenn er mit feinsten Tröpfchen verspritzt wird.

Versuchsergebnisse und Schlussbemerkungen.

Der Ausgangspunkt der Untersuchungen war, festzustellen, wie lange die feinsten keimbeladenen Tröpfchen, wie solche nach Flügge's Untersuchungen beim Sprechen, Husten und Niessen entstehen, nach ihrer Ausstreuung bezw. nach ihrem Absitzen eine Infectionsquelle darstellen.

Flügge ist dieser Frage nicht näher getreten. Gleichwohl erscheint dieselbe mit Rücksicht auf die Abgrenzung der Bedeutung der „Tröpfcheninfection" von grosser Wichtigkeit.

Die Versuche wurden, wie schon früher betont, in erster Linie im Hinblick auf die Lungentuberculose angestellt.

Als eine Art von Vorversuchen sind die in der ersten Mittheilung bereits beschriebenen Untersuchungen mit Prodigiosusbacillen zu betrachten.

Für diese Mikroorganismen wurde festgestellt, dass sie mit feinsten Tröpfchen verspritzt, innerhalb 24 Stunden zu Grunde gehen, vorausgesetzt, dass sie dem diffusen Tageslicht und der freien Luft ausgesetzt sind.

Durch die Construction eines besonderen Apparates wurde es ermöglicht, die Versuche mit pathogenen Mikroorganismen fortzusetzen.

In dem Apparate wurden nur die allerfeinsten Tröpfchen bei gleichzeitiger absoluter Sicherheit gegen eine die Umgebung gefährdende Ausstreuung von Keimen aufgefangen. Die nähere Untersuchung der so gewonnenen Tröpfchen zeigte, dass ihre Grösse um $^1/_{100}$ mm im Durchmesser schwankte und dass sie meist nur einen einzelnen Mikroorganismus, nur selten deren mehrere enthielten.

Die Versuche wurden mit einer Reihe von pathogenen sporenfreien Bakterien angestellt und zwar mit Typhus-, Diphtherie- und Tuberkelbacillen, ferner auch mit Geflügelcholerabakterien, Staphylokokken und Streptokokken. Endlich wurden die Versuche auch auf Bakteriensporen, nämlich Milzbrandsporen, ausgedehnt.

Für die meisten Mikroorganismen wurden Parallelversuche in der Weise vorgenommen, dass die Lebensdauer der mit feinsten Tröpfchen verspritzten Mikroorganismen nicht nur unter der Einwirkung der diffusen Tagesbelichtung und der Austrocknung, sondern auch für Verhältnisse, wie sie in einem wenig belichteten Kellerraume bestehen, verfolgt wurde.

Dabei zeigte sich, dass das Kellerdunkel die mit feinsten Tröpfchen verspritzten Mikroorganismen bedeutend länger lebensfähig erhält.

Was nun im Einzelnen die Dauer der Lebensfähigkeit der untersuchten Bakterienarten unter den angegebenen Bedingungen angeht, so findet man darüber in der folgenden Tabelle XVI eine übersichtliche Zusammenstellung.

Aus der Zusammenstellung geht hervor, dass die Lebensdauer der mit feinsten Tröpfchen verspritzten Mikroorganismen je nach der Art derselben in ziemlich weiten Grenzen schwankt.

Speciell zeigen die Verspritzungsversuche mit tuberculösem Sputum, dass meine in der ersten Mittheilung ausgesprochene Vermuthung, wonach die mit feinsten Tröpfchen verspritzten Tuberkelbacillen unter der Einwirkung von Licht und Luft in „kürzester“ Zeit ihre Lebensfähigkeit verlieren würden, einer Berichtigung bedarf.

Denn wie aus der Tabelle XVI ersichtlich, gehören die Tuberkelbacillen in dieser Beziehung zu den widerstandsfähigsten Bakterienarten.

Tabelle XVI.
Die Dauer der Lebensfähigkeit verschiedener mit feinsten Tröpfchen verspritzten Mikroorganismen.

Bakterienart	1. Am zerstreuten Tageslicht aufbewahrt. Durchschnittlicher Zeitpunkt des Absterbens der Mikroorganismen nach der Verspritzung	2. Im Keller aufbewahrt. Durchschnittlicher Zeitpunkt des Absterbens der Mikroorganismen nach der Verspritzung
Bacillus prodigiosus . . .	24 Stunden	nicht untersucht
Typhusbacillus	24 „	„ „
Diphtheriebacillus . . .	24—48 „	5 Tage
Tuberkelbacillus	5 Tage	wenigstens 22 Tage
Geflügelcholerabacillus . .	10 Stunden	24 Stunden
Staphylococcus pyog. aureus	8—10 Tage	35 Tage
Streptococcus longus . . (bes. widerstandsfähige Art)	10 „	38 „
Milzbrandsporen	10 Wochen	mindestens 3 Monate

Es erscheint also nicht gerechtfertigt, einen bei einem Mikroorganismus erhobenen Befund ohne Weiteres auf andere zu übertragen.

Unberührt bleibt jedoch die stets gefundene Gesetzmässigkeit hinsichtlich der verhältnissmässig kurzen Lebensdauer der mit feinsten Tröpfchen verspritzten Mikroorganismen.

Aus den in der Tabelle XVI niedergelegten Resultaten ergeben sich für die Verbreitungsweise der Infectionskrankheiten, deren Erreger in den Kreis der Untersuchungen gezogen wurden, nachstehende Schlüsse.

Bei Typhus abdominalis dürfte, wie ich dies schon in der ersten Mittheilung ausführte, die Infectionsgefahr, welche von allerfeinsten typhusbacillenhaltigen Tröpfchen nach ihrem Absitzen herrührt, fast gleich Null sein.

Erst recht dürfte dies von den Geflügelcholerabakterien gelten, welche die geringste Lebenszähigkeit bei diesen Versuchen zeigten.

Was die übrigen in Betracht gezogenen Infectionserreger angeht, so ist allgemein zu sagen, dass die Gefahr, welche nach dem Absitzen der mit feinsten Tröpfchen verspritzten Mikroorganismen besteht, proportional ist der Dauer der Lebensfähigkeit der letzteren in diesem Zustande.

Bei der Diphtherie ist eine Infectionsgefahr durch feinste Tröpfchen in diffus belichteten Räumen wohl innerhalb der ersten 2 Tage, in sehr schlecht belichteten innerhalb der ersten 5 Tage nach der Ausstreuung der Tröpfchen möglich.

Für die **Tuberculose** ist die Gefahr beträchtlich grösser, da sich die Tuberkelbacillen in fein vertheiltem Zustande am zerstreuten Tageslicht wenigstens 4 Tage, an dunklen Stellen sogar 3 Wochen und wahrscheinlich sogar noch etwas länger lebensfähig erweisen.

Von den sporenfreien Bakterien zeigen die Kugelbakterien, **Staphylokokken und Streptokokken** die grösste Lebenszähigkeit. Ich möchte aber nochmals betonen, dass, was die Versuche mit Streptokokken angeht, eine sehr widerstandsfähige Streptokokkenart (Streptococcus longus) vorlag.

Dass die **Milzbrandsporen** weitaus die längste Lebensdauer in fein vertheiltem Zustande aufweisen, steht mit ihren sonstigen biologischen Eigenschaften in vollem Einklang. Glücklicher Weise dürfte es zu einer Verspritzung von Milzbrandsporen haltigem Material doch wohl nur in seltenen Fällen kommen.

Die durchgebends gemachte Beobachtung eines im beträchtlichen Maasse conservirenden Einflusses mangelnder Belichtung auf die verschiedenen Bakterienarten, lässt so recht die hygienische Unzulänglichkeit dunkler Wohnungen, namentlich der Kellerwohnungen erkennen.

Aber noch in anderer Hinsicht ist diese Beobachtung von Interesse, nämlich in Bezug auf das Ansteigen gewisser Infectionskrankheiten im Winter, also zu einer Zeit, wo die Tageshelligkeit am geringsten ist.

Auf diesen Punkt möchte ich an dieser Stelle noch etwas näher eingehen. **Behrens**[1] kommt auf Grund statistischer Erhebungen zu dem Resultat, dass die höchsten Erkrankungsziffern an Diphtherie zusammenfallen mit **hohem Hygrometerstand**, geringen Niederschlagsmengen, rauher und **trüber** Witterung.

Auf den Zusammenhang gerade der Sonnenscheindauer mit dem Auftreten von Infectionskrankheiten hat besonders **Ruhemann**[2] hingewiesen. Er sagt: „Wir finden, dass im Grossen und Ganzen, natürlich unter gewissen, die verschiedenen Infectionskrankheiten betreffenden Differenzen, ein umgekehrt proportionales Verhältniss zwischen Morbidität bezw. Mortalität und Sonnenscheindauer besteht.“

Er illustrirt dies besonders an der Influenzaepidemie 1889/90. In gleicher Schärfe wie bei der Influenza und den acuten Affectionen der Athmungsorgane zeigt sich nach **Ruhemann** das umgekehrt proportionale Verhältniss von Sonnenscheindauer und Erkrankungshäufigkeit bei der Phthise, jedoch weniger scharf bei den übrigen Infectionskrankheiten.

[1] **Behrens**, Einfluss der Witterung auf Diphtherie, Scharlach, Masern und Typhus. *Archiv für Hygiene.* Bd. XL.

[2] **Ruhemann**, Meteorologie und Infectionskrankheiten. *Zeitschrift für diätet. und physikal. Therapie.* Bd. I.

Gerade der Umstand, dass die während des Winters bestehende kürzere Tagesdauer das Absterben der mit feinsten Tröpfchen verspritzten Mikroorganismen häufig verzögert, dürfte an dem vermehrten Auftreten einiger Infectionskrankheiten im Winter in gewisser Beziehung stehen.

Um den Einfluss einer Luft von sehr grosser und gleichmässiger Trockenheit auf das Absterben der mit feinsten Tröpfchen verspritzten Krankheitserreger zu studiren, wurde in einer Reihe von Versuchen nach den Besprühungen der grössere Theil der Schälchen in Exsiccatoren, der kleinere Theil zum Vergleich im Laboratorium der freien Luft zugänglich aufbewahrt.

Es wurden in dieser Hinsicht Staphylokokken und Streptokokken, ferner auch Diphtheriebacillen untersucht. Als Exsiccantien wurden Schwefelsäure und Chlorcalcium, bei einem Versuche auch Phosphorsäureanhydrid verwendet.

Eine übersichtliche Zusammenstellung der Versuchsresultate findet man in der folgenden Tabelle XVII.

Tabelle XVII.

Die Dauer der Lebensfähigkeit verschiedener mit feinsten Tröpfchen verspritzten Mikroorganismen bei der Aufbewahrung über verschiedenen Trocknungsmitteln im Exsiccator.

Bakterienart	Zeitpunkt des Absterbens nach der Verspritzung bei Aufbewahrung über Schwefelsäure	Zeitpunkt des Absterbens nach der Verspritzung bei Aufbewahrung über Chlorcalcium	Zeitpunkt des Absterbens nach der Verspritzung bei Aufbewahrung über Phosphorsäureanhydrid
Staphyl. pyogenes aureus	2 Tage	noch nicht nach 20 Tagen *	nicht untersucht
Streptococcus longus (bes. widerstandsf. Art)	nicht untersucht	noch nicht nach 16 Tagen *	„ „
Diphtheriebacillus	21 Stunden	60 Stunden	96 Stunden

* = Nach dem angegebenen Zeitpunkte konnte eine Untersuchung nicht mehr vorgenommen werden, da keine Schälchen mehr vorhanden waren.

Aus der Tabelle XVII geht hervor, dass die verschiedenen Exsiccantien einen ungleichen Einfluss auf die mit feinsten Tröpfchen verspritzten Mikroorganismen ausüben.

Concentrirte Schwefelsäure als Exsiccans dürfte direct schädigend auf die als Einzelindividuen auf den Schälchen vorhandenen Mikroorganismen einwirken, wahrscheinlich durch die im Exsiccator über der Schwefelsäure sich ansammelnden SO_3-Dämpfe.

Im Gegensatz dazu erscheint der conservirende Einfluss der starken Exsiccantien, wie des Chlorcalciums und des Phosphorsäureanhydrids in hohem Grade auffallend. Eine vollkommen befriedigende Erklärung dieser Erscheinung vermag ich zur Zeit nicht zu geben.

Man kann sich wohl vorstellen, dass ein hoher, aber constanter Grad von Trockenheit der Vitalität der Bakterien weniger schädlich ist als Schwankungen im Feuchtigkeitsgehalt der Luft und in der Luftbewegung. Diese Anschauung lässt sich auch stützen durch die von Ficker[1] angestellten Versuche.

Andererseits könnte man annehmen, dass durch die im Exsiccator rasch vor sich gehende Trocknung um jedes einzelne Bacterium eine trockene Hülle entstünde, die den lebenswichtigen Kern vor weiterer Austrocknung schützte, ähnlich der Annahme einer Krustenbildung um die im Exsiccator aufbewahrten, in einer Bakterienaufschwemmung getränkten Seidenfäden.

Inwieweit diese Anschauungen richtig sind, kann natürlich nur durch weitere vielfach modificirte Untersuchungen festgestellt werden.

Bei allen im Vorstehenden beschriebenen Versuchen ist eine Beobachtung immer und immer wieder gemacht worden, auf welche ich besonderes Gewicht legen möchte. Es zeigte sich nämlich, dass die Lebensdauer der Bakterien direct abhängig ist von der Dichtigkeit der den schädlichen Einflüssen des Lichts und der Austrocknung ausgesetzten Bakterienmassen.

So wurde an den Seidenfäden und Leinwandläppchen, welche in den zu den Verspritzungsversuchen verwendeten Aufschwemmungen von Schrägagar- und Serumculturen, ferner auch in den Bouillonculturen gleichzeitig getränkt und unter denselben Bedingungen wie die besprühten Schälchen gehalten wurden, oft über Monate hin lebensfähige Keime nachgewiesen.

Was die Dauer der Lebensfähigkeit der Mikroorganismen in der Form feinster Stäubchen betrifft, so sind die Versuchsresultate in der folgenden Tabelle XVIII übersichtlich zusammengestellt. Daneben sind zum Vergleich die Ergebnisse in Bezug auf die Dauer der Lebens-

[1] A. a. O.

Tabelle XVIII.

Die Dauer der Lebensfähigkeit von Prodigiosusbacillen und Staphylokokken

1. in der Form feinster Stäubchen.			2. in der Form feinster Tröpfchen.		
	a) am zerstreuten Tageslicht aufbewahrt.	b) im Keller aufbewahrt.		a) am zerstreuten Tageslicht aufbewahrt.	b) im Keller aufbewahrt.
Art des zerstäubten Materials	Durchschnittlicher Zeitpunkt des Absterbens der Mikroorganismen nach der Zerstäubung	Durchschnittlicher Zeitpunkt des Absterbens der Mikroorganismen nach der Zerstäubung	Art des verspritzten Materials	Durchschnittlicher Zeitpunkt des Absterbens der Mikroorganismen nach der Verspritzung	Durchschnittlicher Zeitpunkt des Absterbens der Mikroorganismen nach der Verspritzung
Aus Reinculturen gewonnenes Prodigiosusmaterial	12 Tage	30 Tage	Wässerige Aufschwemmungen von Prodigiosusculturen	24 Stunden	nicht untersucht
Mit Prodigiosus versetztes und nachher getrocknetes bronchitisches Sputum	5 „	nicht untersucht			
Aus Reinculturen gewonnenes Material von Staphylococcus pyogenes aureus	28 „	„ „	Bouillonculturen von Staphylococcus pyogenes aureus	8—10 Tage	35 Tage

fähigkeit der mit feinsten Tröpfchen verspritzten Keime nochmals aufgeführt.

Aus der vorstehenden Tabelle XVIII ergiebt sich, dass die durch trockene Zerstäubung gewonnenen feinsten Prodigiosus- und Staphylokokken-*Staubpartikel* eine erheblich längere Lebensdauer aufweisen als die mit gleichschweren feinsten Tröpfchen verspritzten Mikroorganismen der gleichen Art.

Wie erklärt sich nun dieser erhebliche von der Art der Ausstreuung der Keime abhängige Unterschied in der Dauer der Lebensfähigkeit derselben?

Werden Bakterien mit feinsten *Tröpfchen* verspritzt, so kommen sie in so feiner Vertheilung in die Aussenwelt, dass die Schädlichkeiten unmittelbar auf sie einwirken können.

Bei den durch trockene Zerstäubung gewonnenen feinen keimhaltigen *Staubpartikeln* jedoch, bei denen es sich um kleinste Bakterien*conglomerate* handelt, sind die Bedingungen für einen gewissen Schutz mancher Bakterienindividuen gegeben und in Uebereinstimmung damit sehen wir hier auch eine längere Entwickelungsfähigkeit.

Ein weiterer Grund für das verschiedene Verhalten der Mikroorganismen in der Form feinster Tröpfchen und feinster Stäubchen dürfte vielleicht noch darin zu suchen sein, dass die in feuchtem Zustande auffallenden Bakterien durch die Belichtung intensiver geschädigt werden als die in vollkommen trockenem Zustande niedergefallenen Stäubchen. Diese Ansicht lässt sich stützen durch die Thatsache, dass die Bleichwirkung des Sonnenlichts beträchtlich erhöht wird durch Feuchthalten der zu bleichenden Gegenstände.

Nachdem nun eine Vorstellung über das Verhalten der Mikroorganismen hinsichtlich ihrer Lebensdauer in der Form feinster Tröpfchen und feinster Stäubchen gewonnen ist, erhebt sich die Frage, in welchem Umfange der eine oder andere Infectionsmodus bei den verschiedenen in Betracht kommenden Infectionskrankheiten betheiligt ist.

Fassen wir in dieser Beziehung zunächst die *Tuberculose* in's Auge. Meiner Ansicht nach dürfte es überhaupt sehr schwer sein, die strittige Frage zu entscheiden, ob bei der Verbreitung der Tuberculose den mit feinsten Sputumtröpfchen verspritzten Tuberkelbacillen oder den aus eingetrocknetem tuberculösen Lungenauswurf entstandenen Stäubchen die Hauptbedeutung zuzuschreiben ist.

Denn einerseits muss festgehalten werden, dass die mit feinsten Tröpfchen in die Luft übergehenden Tuberkelbacillen auch schon vor ihrer Ablagerung Infectionen bewirken können; andererseits ist es durchaus

wahrscheinlich geworden, dass in aus trockenen Sputummassen hervorgehenden Keimstäubchen die Tuberkelbacillen ihre Lebensfähigkeit länger bewahren als einzelne Bacillen, die mit feinsten Tröpfchen verschleppt wurden.

Noch aus einem anderen Grunde erscheint es nicht gerechtfertigt, dem einen oder anderen Infectionsmodus allgemein die ausschlaggebende Bedeutung bei der Verbreitung der Tuberculose beizumessen.

Denn beispielsweise wird es in der Umgebung eines Phthisikers, der mit seinem Auswurf sehr reinlich verfährt, überhaupt nicht zur Bildung von tuberkelbacillenhaltigen Stäubchen aus trocken zerkleinertem Sputum kommen, wohingegen ein Verspritzen feinster tuberkelbacillenhaltiger Tröpfchen die Umgebung des Kranken in hohem Grade gefährden kann.

Handelt es sich aber um einen Schwindsüchtigen, der seinen Auswurf unbesorgt in Taschentücher und auf den Fussboden entleert, so wird unter geeigneten Verhältnissen der durch feinste aus eingetrocknetem Sputum hervorgegangenen tuberkelbacillenhaltigen Stäubchen vermittelte Infectionsmodus eine ganz wesentliche Gefahr für die Umgebung des Kranken darstellen, namentlich dann, wenn der Kranke nur wenig unter Hustenstössen zu leiden hat.

Zur Verhütung der „Tröpfcheninfection" hat Bernhard Fraenkel[1] vorgeschlagen, die Phthisiker eine Schutzmaske tragen zu lassen.

Ich halte diese Forderung, abgesehen von der praktischen Undurchführbarkeit derselben, schon deshalb für unzweckmässig, weil im Verlaufe neuer Hustenstösse von den bereits an der Maske angetrockneten Sputumtröpfchen wieder Tuberkelbacillen losgerissen und so von dem Kranken wieder aufgenommen werden können. Einen Beweis dafür erblicke ich darin, dass von einer mit Mikroorganismen behafteten Fläche durch das Auftreffen eines feinen Sprays wieder solche losgerissen werden können, wie ich dies in meiner ersten Mittheilung bereits beschrieben habe.

Die für die Tuberculose angestellte Betrachtung dürfte mutatis mutandis auch für die Diphtherie Geltung haben.

Die Untersuchungen bezüglich der Dauer der Lebensfähigkeit von Staphylokokken und Streptokokken in der Form feinster Tröpfchen und Stäubchen dürften auf die Verbreitung von Wundinfectionskrankheiten und gewisser Anginen, namentlich auf das Vorhandensein sogenannter Anginenwohnungen einiges Licht zu werfen, geeignet sein.

[1] Bernhard Fraenkel, Zur Prophylaxe der Tuberculose. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1899. Nr. 2.

Ueber den Zeitraum, während dessen die feinsten Tröpfchen und Stäubchen bei der Verbreitung der Pneumonie, der Influenza und der Pest gefährlich bleiben, möchte ich mich eines Urtheils enthalten, da ich die Erreger der genannten Infectionskrankheiten überhaupt nicht in den Kreis meiner Untersuchungen gezogen habe.

Zum Schlusse spreche ich meinem hochgeehrten Lehrer und Chef, Hrn. Geheimrath Prof. Dr. Gaffky, für die Anregung zu diesen Untersuchungen und für die mir vielfach ertheilten Winke und Rathschläge im Verlaufe der Arbeit meinen ergebensten Dank aus.

[Aus dem Königl. Institut für experim. Therapie zu Frankfurt a/M.]
(Director: Geh. Rath Prof. Ehrlich.)

Zur Lehre von der natürlichen Immunität und über baktericide Heilsera.

Von

Dr. **Friedrich Wechsberg.**

Die Bedeutung der Ergebnisse der bakteriologischen Forschung für die Diagnose, Prognose und Therapie vieler Erkrankungen ist eine schon oft gewürdigte und heute allgemein anerkannte Thatsache.

Die Erkenntniss des ätiologischen Momentes der Krankheiten liess aber in der Therapie auch denjenigen Punkt auf's Neue in Angriff nehmen, der als das vornehmste und höchste Ziel betrachtet werden muss, die Erfüllung der Indicatio causalis, nicht die Behandlung einzelner Symptome, sondern die Vernichtung des krankmachenden Agens als solchen.

So entwickelte sich auf den Befunden der Bakteriologie fussend jenes Gebiet der medicinischen Wissenschaft, welches wir heute unter dem Namen der Serumtherapie zusammenfassen.

In den serotherapeutischen Bestrebungen sind zwei grosse Richtungen scharf von einander trennen. Die eine umfasst die antitoxischen, die andere die baktericiden Sera. Wie der Name bereits sagt, äussern die Sera der ersten Art, die antitoxischen, ihre Wirksamkeit in der Art, dass sie befähigt sind, die von den Bakterien producirten Toxine zu neutralisiren und so den schädlichen Einfluss der Bakteriengifte auf die thierischen Zellen zu verhindern. Nach der Injection nicht tödtlicher Dosen von Toxin treten nach einer bestimmten Zeit in dem

Serum der behandelten Thiere Stoffe auf, die neu eingeführtes Toxin zu binden und dadurch die Zellen des Organismus vor der Einwirkung des Giftes zu schützen vermögen (active Immunität). Diese antitoxischen Substanzen sind frei im Serum der betreffenden Thiere vorhanden. Es wäre allerdings auch die Möglichkeit gegeben, dass durch die einmalige Injection einer nicht tödtlichen Toxindose nur die Gewebe des Thieres auf irgend eine nicht näher bekannte Art gegen weitere an sich tödtlich wirkende Giftdosen unempfindlich gemacht werden. Gegen diese Annahme spricht für die uns bekannten Fälle die Thatsache, dass das Serum eines mit Toxin vorbehandelten (immunisirten) Thieres befähigt ist, auch ein normales, d. i. nicht vorbehandeltes Thier gegen eine auch mehrfach tödtliche Giftdose zu schützen. Diese von v. Behring für das Diphtheriegift gefundene fundamentale Thatsache gab unserer Therapie das Diphtherieserum, und die mit diesem Heilserum erzielten therapeutischen Erfolge stehen jetzt schon ziemlich allgemein anerkannt da, denn die Zahl der Gegner desselben wird von Tag zu Tag geringer. — Diese Substanz, die im Stande ist, die Wirksamkeit des Toxins aufzuheben und die wir Antitoxin nennen, stellt ein Reactionsproduct des Organismus auf die Einführung des Toxins dar.

Ehrlich's Hypothese, die auf dem Boden einer Fülle experimentell gefundener Thatsachen fusst und die sofort in dem bekannten Versuche Wassermann's einen Beweis fand, ist bisher allein im Stande, uns diese Reaction des Organismus, die sich in der Antitoxinproduction äussert, in befriedigender Weise zu erklären. Es sei mir gestattet, die Grundzüge dieser Theorie, der Ehrlich'schen Seitenkettentheorie, kurz zu skizziren. Ehrlich unterscheidet an jedem Toxinmolekül zwei Gruppen, von denen die eine, die toxophore, die Trägerin der giftigen Eigenschaften ist, während die zweite die Bindung des Toxinmoleküls an die thierische Zelle vermittelt und von Ehrlich als haptophore bezeichnet wurde. — Damit jedoch diese Bindung des Toxins an die Zelle erfolgen könne, die die Grundbedingung einer Giftwirkung ist, ist es des Weiteren nöthig, dass die betreffende Zelle auch ihrerseits eine Gruppe besitzt, an die sich die haptophore Gruppe des Toxinmoleküls kuppeln kann. Diese Gruppen der Zelle bezeichnet Ehrlich als Receptoren und fasst sie als präformirte Bestandtheile auf, denen unter physiologischen Verhältnissen wichtige Aufgaben im Stoffwechsel zufallen. Wir können an dieser Stelle auf diese äusserst interessanten Fragen und die von Ehrlich gegebene Eintheilung der Receptoren nicht des Genaueren eingehen und verweisen deshalb bezüglich dieser Punkte auf Ehrlich's Schlussbetrachtungen in seinem Werke über Anämie in Nothnagel's spec. Pathologie und Therapie.

Die beiden Gruppen des Toxins, die haptophore und die toxophore, sind in ihrem Bestehen von einander unabhängig. Denn es ist durch

verschiedene Eingriffe möglich, die toxophore Gruppe des Toxins isolirt zu zerstören und die haptophore zu erhalten. Damit erscheint auch gleichzeitig die Annahme Ehrlich's von dem Bestehen dieser beiden Gruppen experimentell fundirt. So gelingt es auch, die Bindung des Toxins an die Zelle zu ermöglichen, ohne jedoch die toxophore Gruppe zur Wirksamkeit zu bringen. Der isolirte Untergang der toxophoren Gruppe bei erhaltener haptophorer erfolgt auch spontan, und Ehrlich hat für diese Modification des Giftes den Namen Toxoid gewählt.

Den Vorgang der Antitoxinbildung haben wir uns nun nach der Ehrlich'schen Seitenkettentheorie in der Art vorzustellen, dass das Toxin sich mit seiner haptophoren Gruppe an den entsprechenden, d. h. für diese haptophore Gruppe passenden Receptor der Zelle bindet, und zwar im Sinne einer Bindung nach streng chemischen Principien. — Durch diese Bindung des Toxins an die Zelle steht dieselbe unter dem Einflusse des Giftes. Die Folge einer solchen Einwirkung kann nun der vollständige Zelltod sein, oder aber das, was Weigert als partielle Zellschädigung auffasst. Auf eine solche partielle Schädigung antwortet die Zelle mit dem Streben der Reparation des Defectes. Betroffen und für die Zelle verloren ist derjenige Receptor, welcher das Toxin verankerte; diesen bildet die Zelle neu; wie aber Weigert nachgewiesen hat, übersteigt die Reparation oft den Defect, und übertragen wir dies auf den vorliegenden Fall, so wird die Zelle nicht nur den zu Grunde gegangenen Receptor regeneriren, sondern sie wird viele gleiche Receptoren neubilden. — Für die Zelle bedeutet aber diese Ueberzahl von Receptoren einen nicht verwendbaren Ballast, und so werden diese überproducirten Receptoren (ursprünglich Seitenketten genannt) in das Blut abgestossen und circuliren nun in demselben. Sie haben die Eigenschaft, sich mit der haptophoren Gruppe des Toxinmoleküls zu verbinden, dieselbe zu besetzen, zu verstopfen, und berauben damit das Toxinmolekül der Fähigkeit, sich an die an der Zelle sitzenden Receptoren zu ketten, welcher Vorgang die Grundbedingung für das Zustandekommen der Giftwirkung und damit der Zellschädigung (der Erkrankung) darstellt. — Diese frei im Blute circulirenden, vom Organismus producirten Receptoren stellen uns das Antitoxin dar. Aus dieser Darstellung folgt, dass auch die Bindung des Toxins und Antitoxins eine streng chemische sein müsste, wenn die ursprüngliche Annahme der Bindung des Toxins an den noch an der Zelle sitzenden Receptor eine chemische war, denn das Antitoxin ist ja nichts anderes, als die überproducirten und abgestossenen Receptoren, denen die Fähigkeit der Giftverankerung zukommt. Für die Thatsache der chemischen Bindung von Toxin und Antitoxin sind jedoch von Ehrlich und seinen Mitarbeitern eine solche Fülle von Thatsachen bei-

gebracht worden, dass wir sie füglich als bewiesen ansehen können. — Wir müssen uns es versagen, auf diese Befunde des Genaueren einzugehen, da sie den Rahmen dieser Arbeit weit überschreiten würden; wir verweisen diesbezüglich auf Weigert's kritisches Referat der einschlägigen Arbeiten in den Ergebnissen der allgemeinen Pathologie und pathologischen Anatomie u. s. w. (Lubarsch und Ostertag) 1897.

Aus diesen Auseinandersetzungen ergiebt sich, dass zur Darstellung antitoxischer Sera folgende Bedingungen erfüllt sein müssen:

1. Dass die Bakterien in den gebräuchlichen Nährmedien ein für uns nachweisbares Toxin produciren.

2. Dass dieses Toxin in den Zellen des betreffenden Thierkörpers, der zur Immunisirung verwendet wird, passende Receptoren findet.

3. Dass die Schädigung, die das Toxin an den Zellen hervorruft, nicht den vollständigen Zelltod zur Folge hat, sondern dass diese so weit intact bleiben, um regenerativ ein Uebermaass von Receptoren produciren zu können, die dann in's Blut abgestossen werden müssen.

Die erste und wichtigste Bedingung ist die Darstellung des Toxins der betreffenden Bakterienart.

Aus Ehrlich's Seitenkettentheorie ergeben sich aber auch für die therapeutische Anwendung antitoxischer Sera und die Wahrscheinlichkeit eines Erfolges eine Reihe wichtiger Gesichtspunkte. Zunächst folgt aus derselben, dass die Wirkung eines antitoxischen Serums dann am manifestesten sein wird, wenn die Injection möglichst zeitig, d. h. zu einem Zeitpunkte erfolgt, an dem die Bindung des Toxins an die Receptoren der Zellen noch nicht erfolgt ist. Des Weiteren ergiebt sich aber, dass ein selbst rechtzeitig eingespritztes antitoxisches Serum nicht immer, namentlich nicht bei jeder Thierspecies von Erfolg begleitet zu sein braucht.

Es wird nämlich in Consequenz der Theorie Ehrlich's nöthig sein, Thiere zur Immunisirung zu wählen, die ein Antitoxin von hoher Avidität zum Toxin liefern.

Vom Standpunkte der von Ehrlich angenommenen chemischen Bindung von Toxin und Antitoxin wird es aber auch verständlich, dass es durch grosse Mengen von Antitoxin gelingen kann, bereits an Zellen verankertes Toxin wieder loszulösen nach dem Principe der chemischen Massenwirkung. Dönitz'[1] Versuche mit Diphtherieantitoxin geben dafür den Beweis.

---

[1] Dönitz, *Deutsche med. Wochenschrift*. 1897. — *Arch. internat. Pharmacodyn.* 1899.

Da wir mit Ehrlich die Antitoxinbildung als eine Steigerung der Production bereits normal vorhandener Zellstoffe anzusehen haben, so wird es verständlich, dass es eine Reihe von Seris giebt, die schon de norma kleinere oder grössere Mengen freies Antitoxin enthalten, das sich, was Specifität und sonstige Eigenschaften anbelangt, von dem immunisatorisch hervorgerufenen nicht unterscheiden lässt, wie es M. Neisser[1] neuerdings betont hat.

So fand Wassermann zuerst im Serum mancher normaler Menschen nicht unbeträchtliche Mengen Diphtherie-Antitoxin, was Abel bald darauf bestätigte; Meade Bolton und Cobbett fanden später ebenfalls Diphtherie-Antitoxin bei vielen normalen Pferden. Nach Ehrlich enthält Pferdeserum Tetanusantitoxin, und das Menschen- und Pferdeserum enthält ziemlich regelmässig nicht unbeträchtliche Mengen Antistaphylotoxin. (Van de Velde, M. Neisser und Fr. Wechsberg, Kraus und Clairmont.)

So haben wir uns also die Wirkung eines antitoxischen Serums auf ein Toxin im Sinne einer chemischen Bindung zweier Körper, des Toxins und des Antitoxins vorzustellen, die sich zu einer neuen ungiftigen Verbindung vereinigen, wobei wir es vorläufig nicht berücksichtigen, dass es sich nach den Untersuchungen Ehrlich's für das Diphtherietoxin, und von weiteren Untersuchungen von Ehrlich und Madsen für das Tetanustoxin und denen von M. Neisser und Verf. für das Staphylotoxin nicht um ein einheitliches Gift, sondern um ein aus verschiedenen Giften zusammengesetztes Gemisch handelt.

Aus der chemischen Anschauungsweise ergiebt sich aber des Weiteren, dass für eine Heilwirkung mit einem antitoxischen Serum ein Ueberschuss desselben nicht nur nicht schaden, sondern für die vollständige Absättigung des Giftes und im Sinne der oben angedeuteten Sprengung einer bereits vorhandenen Verbindung von Zellreceptor und Toxin nur von Vortheil sein kann.

So sehen wir denn, wie eine Fülle von theoretischer Arbeit den Boden für eine praktische Anwendung der antitoxischen Sera geschaffen hat und uns die Erklärung für Erfolg und Misserfolg giebt, damit aber auch die Richtung, nach der sich unsere weiteren Untersuchungen zu bewegen haben.

Während die von uns bisher besprochenen Sera ihre Wirksamkeit gegen die von den Bakterien producirten Toxine äussern, die Bakterien selbst jedoch vollkommen unbeeinflusst lassen, vernichten die Heilsera der zweiten

[1] M. Neisser, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1900.

Art, wie bereits ihr Name besagt, die Bakterien selbst, indem sie sie abtödten.

Während die Thatsache, dass es möglich ist, Bakterien durch normale Thiersera, die frei sind von allen cellulären Elementen, abzutödten, durch die Untersuchungen von Buchner, Nutall, Nissen, v. Fodor u. s. w. schon länger bekannt ist, verdanken wir R. Pfeiffer und seinen Mitarbeitern die Entdeckung der Einwirkung der specifisch auf ein bestimmtes Bacterium wirkender Immunsera, erhalten durch Injection der Bakterien selbst. Während also die antitoxischen Sera die Bakterien als solche intact lassen, tödten die baktericiden die Bakterien selbst ab. Ob sie nebenbei noch eine antitoxische Eigenschaft besitzen, müssen wir vorläufig dahin gestellt sein lassen, ihre Hauptwirkung liegt, soweit unsere heutigen Erfahrungen reichen, in der Baktericidie. R. Pfeiffer und seine Schüler glaubten Anfangs, dass die baktericiden Sera ihre Wirksamkeit nur im Thierkörper entfalten können, da sie bei Untersuchungen in vitro keine gegenüber dem normalen Serum erhöhte baktericide Kraft nachweisen konnten. R. Pfeiffer[1] nahm deshalb an, dass die wirksame Substanz des baktericiden Immunserums in demselben in einer inactiven Form vorhanden sei und erst im Thierkörper durch irgend ein Agens wirksam werde. Doch konnten schon Metschnikoff[2] und Bordet[3] im Jahre 1895 nachweisen, dass die baktericiden Sera auch in vitro wirksam gemacht werden können, wenn man geringe Mengen frischen Peritonealexsudates normaler Thiere zusetzt oder frisch gewonnenes Immunserum untersucht.

Einen genaueren Einblick in den Wirkungsmechanismus der baktericiden Sera konnte man aber erst erlangen, als man in den von Bordet[4] im Anschluss an die Beobachtung von Belfanti und Carbone gefundenen Hämolysinen ganz analog den baktericiden wirksame Sera hatte, die sich für die Untersuchung der principiellen Fragen weit besser eigneten. Den Untersuchungen Bordet's, dann den grundlegenden Arbeiten von Ehrlich und Morgenroth[5] verdanken wir heute schon einen ziemlich tiefgehenden Einblick in diese Verhältnisse. An diese Untersuchungen schlossen sich dann eine Reihe weiterer Befunde über cytotoxische Sera anderen Zellen gegenüber, so den Leukocyten, Spermatozoen, Flimmerepithel, Nierenepithel u. s. w.

[1] R. Pfeiffer, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1896.

[2] Metschnikoff, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1895.

[3] Bordet, *Ebenda.*

[4] Bordet, *Ebenda.* T. XII.

[5] Ehrlich u. Morgenroth, Ueber Hämolysine. 6 Mittheilungen. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1899, 1900, 1901.

Von der Analogie der Verhältnisse bei den hämolytischen und baktericiden Seris haben wir uns durch umfangreiche eigene Vorversuche, die ich seiner Zeit in Gemeinschaft mit meinem verehrten Lehrer, Hrn. Professor M. Neisser, ausführte, überzeugt, und es sei mir gestattet, wenn auch wieder nur in den Grundzügen, die Theorie der Wirkung der cytotoxischen Sera klarzulegen, ohne jedoch des Genaueren auf die noch schwebenden Streitfragen einzugehen.

Erhitzen wir ein cytotoxisches (also auch ein baktericides) Serum $^1/_2$ Stunde auf 56 bis 60°, so verliert dasselbe gewöhnlich seine zellauflösenden Eigenschaften vollständig. Es vermag dann in beliebig grosser Menge den Zellen, auf die es specifisch reagirt, zugesetzt, keine Schädigung derselben mehr hervorzurufen. Schon in diesem Fundamentalversuch lag ein wichtiger Unterschied gegenüber den antitoxischen Seris, die bei Erwärmung bis zur genannten Temperatur ihre Eigenschaften gegenüber dem Toxin voll bewahren. — Fügen wir jetzt einem solchen unwirksam gemachten (inactivirten), z. B. hämolytischen Serum eine gewisse Menge eines bestimmten frischen normalen Serums hinzu, das an sich auch die betreffenden Blutkörperchen intact lässt, so tritt jetzt Lösung ein. Durch ein Gemisch zweier an sich unwirksamer Serumarten wird aber, wie Bordet zuerst feststellte, Lösung hervorgerufen. Diese Thatsache, die in gleicher Weise für baktericide Sera gilt, bewirkt, dass die Auflösung auf zwei Factoren beruht, von denen der eine hitzebeständig ist und sich in dem betreffenden Immunserum findet, während der zweite, der thermolabile, schon im normalen Serum vorhanden ist. Nach den Ansichten von Ehrlich und Morgenroth haben wir uns dieses Phänomen in der Weise vorzustellen, dass die thermostabile Componente, die durch die Immunisirung erzeugt wurde, zwei haptophore, d. h. bindende Gruppen besitzt, von denen die eine zu einem Receptor der betreffenden zu schädigenden Zelle, sei es Blutkörperchen, oder Bacterium u. s. w., passt, während die zweite bindende Gruppe den bereits im normalen Serum vorhandenen, eigentlich lösenden, thermolabilen Körper, das Complement Ehrlich-Morgenroth's, verankert. Das thermostabile Element wurde von Ehrlich-Morgenroth Immunkörper, Zwischenkörper, Amboceptor genannt, von Bordet Substance sensibilisatrice, von Müller Copula, das thermolabile von Ehrlich-Morgenroth Complement und Addiment von Bordet, Buchner Alexin.

Wir haben uns nach Ehrlich-Morgenroth die Wirkung des Amboceptors also in der Art eines Bindegliedes vorzustellen, das die auflösende Kraft des Complementes auf die betreffende Zelle vermittelt. Die Bindung zwischen Amboceptor und Zelle einerseits und zwischen Amboceptor

und Complement andererseits ist nach Ehrlich und Morgenroth im Sinne einer chemischen aufzufassen.

Wie sich bereits aus dem Erörterten ergiebt, entsteht durch Behandlung eines Thieres mit Bakterien, Blutkörperchen u. s. w. nur der die Bindung vermittelnde Amboceptor, während das Complement schon im normalen Serum vorhanden ist. Die Entstehung des Amboceptors haben wir uns nach der Ehrlich'schen Seitenkettentheorie genau wie die des Antitoxins vorzustellen. Die zur Immunisirung verwendeten Zellen greifen mit einer ihrer haptophoren Gruppen an den Receptoren des zu immunisirenden Thieres an und veranlassen auf die oben beschriebene Art die Ueberproduction und Abstossung dieser Receptoren in's Blut. Diese Receptoren unterscheiden sich aber von den das Antitoxin bildenden dadurch, dass sie nicht nur eine bindende Gruppe haben, die gegebenen Falles an die betreffende zur Immunisirung verwendete Zelle angreift, sondern noch eine zweite zur Bindung des Complementes. Ehrlich bezeichnet diese Receptoren als Receptoren III. Ordnung. Das Complement seinerseits muss wieder eine bindende, haptophore, Gruppe besitzen, die in die zweite haptophore, complementophile, Gruppe des Amboceptors hineinpasst, und eine zweite Gruppe, die die Trägerin der auflösenden Eigenschaften ist, die zymotoxe Gruppe. Diese Gruppe ist thermolabil, sie kann isolirt auch durch weniger eingreifende Proceduren, ja selbst bei Aufbewahrung im Eisschrank nach verhältnissmässig kurzer Zeit zu Grunde gehen, während die zweite, die haptophore, erhalten bleiben kann, wie es Ehrlich und Morgenroth nachgewiesen haben. — Solche Complemente, die ihrer auflösenden Kraft beraubt sind, die aber noch die Fähigkeit der Bindung haben, wurden von Ehrlich und Morgenroth als Complementoide bezeichnet.

Es sei nur ganz kurz erwähnt, dass Bordet eine andere Vorstellung von diesem Mechanismus hatte. Bordet glaubt, dass durch den Amboceptor die betreffende Zelle empfindlich gemacht werde (daher Substance sensibilisatrice) für die Einwirkung des direct an sie angreifenden Complementes, eine Ansicht, die uns besonders nach einem von M. Neisser und Verf. beobachteten Phänomen, auf das wir noch zu sprechen kommen werden, unhaltbar erscheint.

Aus der gegebenen Darstellung wird es klar, dass der Amboceptor nur für die Bakterien- bezw. Blutkörperchenart passen wird, mit der die Immunisirung vorgenommen wurde, denn diese Zellen besitzen diejenigen Receptoren, mit welchen die eine haptophore Gruppe des Amboceptors correspondirt. Allerdings kann es vorkommen, dass auch andere Zellen zufällig den gleichen Receptor besitzen, und dann werden auch diese den

Amboceptor verankern und bei vorhandenem Complement zur Auflösung gebracht werden können, ein Fall, wie er theoretisch denkbar und für Blutkörper jüngst von Ehrlich und Morgenroth nachgewiesen worden ist. Wir werden daher den Amboceptor als etwas specifisch Wirksames aufzufassen haben, allerdings nicht so sehr specifisch für eine bestimmte Zellart, als vielmehr specifisch für Zellen mit bestimmten Receptoren.

Entgegen der Annahme von Bordet, Buchner u. A. sind wir auf Grund unserer Ansicht nach beweisender Versuche von Ehrlich und Morgenroth, sowie eigener diesbezüglicher Versuche gezwungen anzunehmen, dass ein bestimmtes Serum nicht ein einziges Complement enthält, sondern eine Mehrzahl derselben mit verschiedener haptophorer und vielleicht auch zymotoxischer Gruppe, eine Ansicht, die A. Wassermann durch interessante Versuche bestätigt hat. Wir müssen auf den Bericht über weitere Datails in den diesbezüglichen Untersuchungen hier verzichten, da sie bei der nothwendigen gedrängten Darstellung das Verständniss erschweren würden, und sich bei den baktericiden Seris die Dinge ohnehin schon weit complicirter stellen, als bei den antitoxischen.

Aus diesen Verhältnissen ergeben sich nun für die Wirksamkeit eines baktericiden Serums folgende aus den theoretischen Anschauungen gezogenen Schlüsse:

Zunächst muss der Amboceptor, der die Bakterien auflösende Wirkung des Complementes vermittelt, in genügender Menge vorhanden sein. Dies ist durch Injection hochwerthiger Sera oder durch grössere Mengen schwächerer zu erreichen. Aus einer Reihe von Gründen ist jedoch die Injection kleinerer Mengen hochwerthiger Sera vorzuziehen.

Ein weiteres Postulat zur Erreichung eines Heileffectes mit baktericiden Seris ist jedoch das Vorhandensein einer genügenden Menge Complements.

Wie sich aus dem Vorstehenden ergiebt, ist das Complement äusserst labil, zum Mindesten in seiner zymotoxischen, also eigentlich wirksamen Gruppe und verschwindet schon unter normalen Verhältnissen bei Aufbewahrung im Eisschrank rasch oder geht in die unwirksame Modification, das Complementoid, über. Wir können daher unter gewöhnlichen Verhältnissen annehmen, dass ein baktericides Serum, wenn es nicht ganz frisch verwendet wird, kein Complement oder nur in solchen Mengen enthält, die nicht in Frage kommen. Die Complemente sind aber schon im normalen Serum vorhanden und deshalb wird auch durch ein solches complementloses Immunserum im Thierkörper Bakterieidie erfolgen können, weil das betreffende Thier selbst das nöthige Complement liefern und so

das inactiv gewordene Serum reactiviren wird. Allerdings ist für eine derartige Reactivirung nach unseren theoretischen Prämissen nicht jedes Complement geeignet, denn dasselbe muss in seiner haptophoren Gruppe so beschaffen sein, dass es in die complementophile des Amboceptors passt. Es muss nach diesen Anschauungen ein baktericides Serum nicht jedes beliebige Thier gegen die Infection mit dem betreffenden Erreger schützen. Praktische Erfahrungen bestätigen diese Deduction (Sobernheim'sche Milzbrandversuche).

Die Wahrscheinlichkeit der Reactivirung eines baktericiden Serums wird jedoch grösser, wenn wir in Betracht ziehen, dass nach den Untersuchungen von Ehrlich und Morgenroth jedes Serum eine grössere Zahl verschiedener Complemente enthält, ferner, dass jedes Immunserum, wie es sich gleichfalls aus den Ehrlich-Morgenroth'schen Untersuchungen zur Evidenz ergiebt, nicht nur einen Amboceptor enthält, sondern Schaaren verschiedener Amboceptoren, verschieden auch in ihrer complementophilen Gruppe. Durch diese Verhältnisse wird die Wahrscheinlichkeit der Reactivirung wenigstens eines Theiles der Amboceptoren des Immunserums grösser.

Aus dem Vorstehenden folgt des Weiteren, dass im Vergleich zu der Bakterienmenge eine bestimmte absolute Menge von Complement zur Erzielung einer Baktericidie vorhanden sein muss. Untersuchungen von M. Neisser und Verfasser[1] haben jedoch noch auf ein anderes nicht minder wichtiges Verhältniss aufmerksam gemacht.

Bereits Löffler und Abel, R. Pfeiffer, Leclainche und Morel hatten bei Thierversuchen die Erfahrung gemacht, dass bei Infection einer Reihe von Thieren mit der gleichen Menge Cultur, nach Injection eines baktericiden Serums nur die Thiere mit einer mittleren Dose des Immunserums am Leben blieben, während die Thiere mit den grossen Dosen von Immunserum ebenso starben, wie die mit den kleinen. Der Tod der letzteren war durch den Mangel der nöthigen Menge von Immunserum leicht erklärt, während die oben genannten Autoren für den Umstand, dass auch Thiere mit sehr grossen Dosen von Immunserum starben, keine ausreichende Erklärung zu geben vermochten. M. Neisser und Verfasser gelang es nun, nach Beobachtung des gleichen Phänomens bei baktericiden Reagensglasversuchen auf Grund der Ehrlich-Morgenroth'schen Anschauungen eine Erklärung zu geben. Bringen wir die aufzulösende Zellart mit dem passenden Amboceptor und Complement zusammen, so erfolgt, wie wir es auseinandergesetzt haben, zunächst die

---

[1] M. Neisser u. Fr. Wechsberg, *Münchener med Wochenschrift*. 1901.

Bindung des Amboceptors an die Zelle und dann die des Complementes an die zweite, die complementophile Gruppe. — Sind Amboceptor und Complement gerade in der zur Auflösung nöthigen Menge vorhanden, so wird die Wirkung, die Auflösung der Zelle, erfolgen. Geben wir aber einen Ueberschuss von Immunserum, so können sich jetzt die Verhältnisse anders gestalten.[1] Mit der Bindung des Amboceptors an die aufzulösende Zelle kann, wenn wir uns auf den chemischen Standpunkt stellen, nach Analogie mit anderen chemischen Processen eine Aenderung der Avidität der zweiten, der complementophilen Gruppe des Amboceptors Hand in Hand gehen; d. h. die Avidität der complementophilen Gruppe kann durch die Bindung des Amboceptors an die Zelle erhöht werden, gleich bleiben, oder auch geringer werden. Im ersten Falle bei erhöhter Avidität wird auch ein bedeutender Ueberschuss von Amboceptoren auf den Endeffect der Lösung ohne jeden Einfluss sein, denn die an die Zellen fixirten Amboceptoren sind avider als die überschüssigen, frei vorhandenen, das Complement wird sich also zunächst stets an die bereits verankerten Amboceptoren binden und dann erst, wenn diese in ihrer Gesammtheit bereits besetzt sind, an die noch frei vorhandenen gehen. — Solche Verhältnisse liegen nach allem, was wir bisher darüber wissen, offenbar bei dem Hämolysiren vor.

Anders stellen sich aber die Verhältnisse, wenn wir annehmen, dass durch die Bindung des Amboceptors an die Zellen die Avidität der complementophilen Gruppe herabgesetzt wird oder gleich bleibt gegenüber den nicht verankerten Amboceptoren. Führen wir in diesem Falle die gerade nothwendige Menge des baktericiden Immunwesens ein, so wird auch ein vollständiger Erfolg in Form der Abtödtung der betreffenden Zellen eintreten. Steigern wir aber die Menge des Immunserums bei gleichbleibender Menge des Complementes, so werden, gleiche Avidität von verankerten und nicht verankerten Amboceptoren vorausgesetzt, die Complemente sich wahllos auf die beiden Amboceptorenformen vertheilen; wirksam können aber nur diejenigen Complemente sein, die sich an verankerte Amboceptoren ketten, und so wird der Abtödtungserfolg geringer sein. Noch ungünstiger werden sich für eine Bakterieidie die Dinge gestalten, wenn der Fall der Aviditätsverringerung eintritt; jetzt werden zunächst die nicht verankerten, für eine Baktericidie werthlosen Amboceptoren besetzt werden, und erst der übrigbleibende Complementrest wird für die verankerten Amboceptoren zur Verfügung stehen.

---

[1] In der citirten Arbeit von M. Neisser und F. Wechsberg ist der Uebersichtlichkeit halber eine etwas andere Darstellung gewählt worden.

Aus diesen Aviditätsverhältnissen der complementophilen Gruppe ist die für eine Baktericidie ungünstige Wirkung grosser Immunserumdosen zu erklären, die von anderen am Thiere, von uns auch in vitro beobachtet worden ist. Daraus folgt aber für die Verwendung der baktericiden Sera, dass nicht nur die absolute Menge von Immunserum und Complement, sondern auch das relative Verhältniss zwischen Immunserum und Complement von Wichtigkeit sein kann. Es muss natürlich Gegenstand weiterer Untersuchung sein, inwieweit dieses Gesetz für bactericide Sera und eventuell verschiedene Complemente allgemeine Gültigkeit hat.

Da sich das Complement schon im normalen Serum frei findet, der Amboceptor aber gleichfalls eine bereits im Organismus präformirte Gruppe ist, die durch den Immunisirungsprocess nur in erhöhtem Maasse producirt wird, so ist es nichts Wunderbares, dass es schon normaler Weise eine grosse Menge baktericid wirkender Sera gegen verschiedene Bakterien giebt. Jedenfalls müssen wir aber nach unseren Versuchen in gleicher Weise, wie für die Immunsera, an dem Grundsatze festhalten, dass auch für die baktericide Kraft der normalen Sera stets zwei Componenten in Frage kommen, der Amboceptor und das Complement. Die von uns untersuchten normalen Sera sind alle für eine Reihe von Bakterien baktericid. Der Unterschied zwischen einem solchen normalen Serum und einem bestimmten Immunserum, das von demselben Thiere stammt, besteht zunächst darin, dass in dem Immunserum durch den Immunisirungsprocess diejenigen Amboceptoren an Zahl vermehrt wurden, die zu demjenigen Bacterium passen, mit dem und gegen welches immunisirt wurde.

Mit der baktericiden Kraft der normalen Sera wird aber auch, wenigstens zum grossen Theile, die natürliche Immunität einzelner Thiere gegen gewisse Infectionen und gegen kleinere Dosen sonst pathogen wirkender Bakterien in Zusammenhang gebracht, indem man annimmt, dass eben die baktericiden Substanzen des normalen Serums befähigt sind, kleine Mengen eingeführter Bakterien zu vernichten.

A. Wassermann[1] kam nun auf Grund der vorstehenden Thatsachen zu folgender Ueberlegung:

Wenn es richtig ist, dass die natürliche Immunität mit der baktericiden Kraft des normalen Serums zusammenhängt, so muss es uns möglich sein, ein Thier, das gegen eine bestimmte Dose irgend eines Bacteriums unempfindlich ist, für diese Dose empfänglich zu machen, wenn es uns

[1] A. Wassermann, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1901. — *Diese Zeitschrift.* 1901. Bd. XXXVII.

gelingt, im Thierkörper die Wirkung des Complementes auszuschalten. Die Möglichkeit zu einem solchen Versuche ist durch die Befunde von Ehrlich und Morgenroth, Bordet, Müller u. s. w. gegeben, dass es nämlich genau in analoger Weise, wie für die Toxine, auch für Amboceptor und Complement gelingt, specifisch wirkende Antikörper zu erzeugen. — Die Erzeugung von Anticomplement gelingt verhältnissmässig leicht und regelmässig, schwerer und nur in bestimmten Fällen die des Anti-Amboceptors. Injiciren wir z. B. einem Kaninchen frisches Meerschweinchenserum, so treten nach einer bestimmten Zeit im Serum des Kaninchens Körper auf, die das Complement des Meerschweinchenserums chemisch binden und so unwirksam machen.

Wassermann injicirte nun zwei Meerschweinchen intraperitoneal je 1 Oese lebender Typhuscultur, von der bereits $^{1}/_{40}$ Oese ein Meerschweinchen intraperitoneal injicirt tödtete. Ich folge hier zunächst der Darstellung Wassermann's in seiner ersten Publication über diesen Gegenstand, auf dessen zweite Publication gedenke ich weiter unten zurückzukommen. — Einem dieser beiden Meerschweinchen injicirte nun Wassermann gleichzeitig mit der Cultur intraperitoneal 3 ccm inactiven normalen Kaninchenserums, dem zweiten 3 ccm inactiven (d. i. $^{1}/_{2}$ Stunde auf 60° erhitzten) Serums eines Kaninchens, das vorher längere Zeit mit normalem activen Meerschweinchenserum injicirt worden war, das also in seinem Serum Anti-Meerschweinchencomplement enthielt, wie sich Wassermann durch Versuche überzeugt hatte. Von diesen beiden Thieren starb das zweite, das Anticomplementserum erhalten hatte, acut, während das erste, dem inactives normales Kaninchenserum injicirt worden war, am Leben blieb. Wassermann schloss nun aus diesem Versuche, dass es ihm gelungen sei, die natürliche Resistenz des Meerschweinchens gegen eine bestimmte Menge Typhuscultur aufzuheben.

Dieser Schlussfolgerung Wassermann's können wir uns nicht vollinhaltlich anschliessen. Da das Controlthier (mit inactivem normalen Kaninchenserum injicirt) das 40fache der tödtlichen Dose von Thyphusbacillen erhalten hatte und am Leben blieb, kann es sich hier nicht mehr um eine natürliche Immunität gehandelt haben. Der Fall wird uns durch einen Reagensglasversuch leicht aufgeklärt.

In eine Reihe steriler Röhrchen wird eine bestimmte Menge Typhuscultur gegeben. Dazu kommen in die eine Hälfte der Röhrchen abfallende Mengen normalen activen Meerschweinchenserums, in die zweite Hälfte der Röhrchen aber ausser den gleichen Mengen activen Meerschweinchenserums noch je 1 ccm normalen inactiven Kaninchenserums.

Dann wurden sämmtliche Röhrchen mit 0·85 procent. Kochsalzlösung auf gleiches Volumen aufgefüllt. Um ein ungestörtes Wachsthum der Cultur auch in den Controlen zu gewährleisten, kommen ausserdem noch in jedes Röhrchen drei Tropfen Bouillon. Diese Röhrchen blieben $3^1/_2$ Stunden im Brütschrank, um nach dieser Zeit zu Agarplatten, (je zehn Tropfen aus jedem Röhrchen) verarbeitet zu werden. — Das Resultat des Veruches giebt die folgende Tabelle I und II.

Tabelle I.

Culturmenge	Actives normales Meerschweinchenserum	Zahl der Keime auf der Platte	Bemerkungen
$^1/_{10\,000}$ einer 1tägigen Typhus-Agar-cultur	1·0 ccm	mehrere Hunderte	
	0·5 „	viele Tausende	
	0·25 „	∞	
	0·1 „	∞	
	—	∞	Controle I

Tabelle II.

Culturmenge	Actives normales Meerschweinchen-serum	Inactives normales Kaninchen-serum	Zahl der Keime auf der Platte	Bemerkungen
$^1/_{10\,000}$ einer 1tägigen Typhus-Agar-cultur	1·0 ccm	1·0 ccm	0	
	0·5 „	1·0 „	0	
	0·25 „	1·0 „	viele Tausende	
	0·1 „	1·0 „	∞	
—	1·0 ccm	—	0	Controle II
—	—	1·0 ccm	0	„ III
$^1/_{10\,000}$ Agar-cultur	—	1·0 „	∞	„ IV

Zu jedem Röhrchen 3 Tropfen Bouillon.
Mit 0·85 procent. Kochsalzlösung alle Röhrchen auf gleiches Volumen aufgefüllt.
Sodann $3^1/_2$ Stunden Thermostat bei 37°.
Hierauf je 10 Tropfen zu Agarplatten verarbeitet.
Controle I ergiebt die Aussaat.
„ II beweist die Sterilität des Meerschweinchenserums.
„ III „ „ Kaninchenserums.
„ IV „ , dass inactives Kaninchenserum als solches nicht baktericid wirkt.

Aus diesem Versuche ergiebt sich, dass die baktericide Kraft des Meerschweinchenserums, die an sich nicht sehr gross ist, durch inactives normales Kaninchenserum bedeutend gesteigert wird. — Tabelle I zeigt, dass actives Meerschweinchenserum eine gewisse baktericide Kraft für Typhusbacillen besitzt; dieselbe kann nach den oben stehenden Erörterungen nur davon sbhängig sein, dass in dem Serum ein passender Amboceptor vorhanden ist, und ferner, dass das Meerschweinchenserum auch ein zu diesem Amboceptor passendes Complement besitzt. Normales inactives Kaninchenserum steigert die bacteride Kraft. Da es inactivirt ist, kann es kein wirksames Complement, sondern nur noch freie Amboceptoren besitzen, die eventuell zu den Typhusbacillen passen. — Für diesen Amboceptor besitzt nun das Meerschweinchenserum das passende Complement, wobei wir es vorläufig unentschieden lassen müssen, ob der im Kaninchenserum vorhandene Amboceptor für den Typhusbacillus identisch ist mit dem im Meerschweinchenserum vorhandenen.

Mit dieser Thatsache ist aber auch der Versuch Wassermann's erklärt, der als solcher, wie wir uns durch eigene Controlversuche überzeugen konnten und wie nicht anders zu erwarten war, vollkommen richtig ist. Das Controlthier Wassermann's verträgt deshalb die 40fach tödtliche Dose von Typhusbacillen, weil wir ihm in dem inactiven Kaninchenserum einen Amboceptor injicirten, zu dem das Meerschweinchen selbst das passende Complement liefern kann. Unter diesen Umständen dürfen wir aber nicht mehr von einer natürlichen Immunität des Controlthieres sprechen, sondern dieses Thier ist passiv immunisirt, denn es ist ja gleichgültig, ob der Amboceptor schon im normalen Serum vorhanden ist, oder erst durch einen specifischen Immunisirungsprocess in demselben erzeugt wird Natürlich hatte auch das zweite Versuchsthier gleichzeitig mit dem Anticomplement in dem Kaninchenserum auch den eben besprochenen Amboceptor injicirt erhalten. So ist dieser Fall nur ein weiterer Beitrag zu der von Wassermann in seiner zweiten Arbeit besprochenen Frage des Bruches der künstlichen passiven Immunität. Gleichwohl hat Wassermann durch einen etwas anderen Versuch in dieser zweiten Arbeit zuerst auch die natürliche Resistenz von Versuchsthieren durch einverleibtes Anticomplement künstlich herabgesetzt. Noch ein anderer Weg war aber möglich, nämlich der der Erzeugung von Auto-Anticomplementen im Sinne von Ehrlich und Morgenroth. Injicirt man z. B. einem Kaninchen normales inactives Ziegenserum intraperitoneal, so entstehen nach Ablauf der für die Bildung von Antikörpern nöthigen Zeit Anticomplemente im Blute des Kaninchens gegen seine eigenen Complemente. Zu der Zeit,

in welcher diese von Ehrlich-Morgenroth als Auto-Anticomplemente bezeichneten Stoffe im Thiere vorhanden sind, dürfte jedoch ein eventuell gleichzeitig im Ziegenserum mit injicirter Amboceptor bereits verschwunden sein, und wir könnten dann die Anticomplementwirkung in reiner Form studiren. In dieser Beziehung seiner Zeit gemeinschaftlich mit Hrn. Prof. M. Neisser mit Staphylokokken angestellte Versuche am Kaninchen führten, wie ich hier kurz berichten möchte, im Allgemeinen zu einem befriedigenden Resultate.

In seiner zweiten Publication hat Wassermann durch die Injection von physiologischer Kochsalzlösung, Urin, Bouillon, Blutserum u. s. w. die natürliche Resistenz in nicht specifischer Weise gesteigert, und betrachtet diese Resistenzerhöhung „als nichts Anderes, als ein erhöhtes Zuströmen von Complementen zwecks Verdauung nach einer Stelle des Organismus".

Wir glauben jedoch, dass die Resistenzerhöhung durch Serum ausgeschaltet werden muss, denn sie beruht sicher, zum Theile wenigstens, wie wir nachgewiesen zu haben glauben, auf dem Vorhandensein eines zu dem betreffenden Bacterium passenden Amboceptors, ist also dann specifischer Natur. Damit würde auch die Beobachtung Besredka's[1] sich vereinigen lassen, der ebenso, wie bereits vorher Wassermann, nach Injection von Meerschweinchenserum, und zwar sogar von activem Meerschweinchenserum, nur einen geringen Effect zu erzielen vermochte. Das Meerschweinchenserum besitzt nämlich, soweit es sich aus unseren diesbezüglichen Versuchen ersehen lässt, eine nur geringe Menge eines Amboceptors, der zu dem Typhusbacillus passt, und für den es selbst das passende Complement besitzt.

Wir haben die Klarlegung dieser Verhältnisse nach unseren Versuchen deshalb für geboten erachtet, weil von Seiten Besredka's die Wassermann'sche Erklärung angegriffen wurde, und wir glauben, dass sich eine Reihe der Angriffspunkte gegen die in ihren Grundzügen u. E. vollkommen richtige Wassermann'sche Annahme unter Berücksichtigung des miteingeführten Amboceptors widerlegen lasst. Auf eine eingehende Kritik der Einwände Besredka's müssen wir jedoch hier verzichten.

Dagegen scheint es uns geboten, noch einen weiteren Punkt in den Versuchen Wassermann's zu besprechen. Wassermann fand, dass er in gleicher Weise, wie die natürliche auch die künstliche passive Immunität, durch Anticomplement aufheben könnte. Er injicirte einem Meerschweinchen 1 Oese Typhuscultur + 0·004 ^{ccm} eines Typhus-Immunserums + 3·0 ^{ccm} Anticomplementserum; dieses Thier starb, während ein

[1] Besredka, *Annales de l'Institut Pasteur*. 1901.

Controlthier, das nur 0·001 ccm desselben Immunserums + Cultur jedoch kein Anticomplement erhalten hatte, am Leben blieb. Soweit wäre der Versuch Wassermann's vollkommen verständlich und leicht zu deuten. Gab jedoch Wassermann statt 0·004 ccm Immunserum 0·2 ccm und ebenfalls 3·0 ccm Anticomplement, so blieb das Thier, trotz des Anticomplementes, am Leben. Wassermann suchte dieses Versuchsergebniss in der Weise zu erklären, dass durch diese grossen Dosen von Immunserum die Verbindung Complement + Anticomplement gesprengt werde, bezw. dass „durch die Einführung grösserer concentrirter Mengen von specifisch baktericidem Immunkörper die Affinität zwischen diesem und dem Complement vermehrt wird, so dass also das Complement dann trotz Anwesenheit des Anticomplementes an die complementophile Gruppe des Immunkörpers geht, und so das Thier am Leben bleibt."

Wir konnten diese Beobachtung Wassermann's mangels eines geeigneten hochwerthigen Typhus-Immunserums nicht nachprüfen, müssen sie aber bei der Verlässlichkeit des Autors als richtig ansehen. So annehmbar indessen die Wassermann'sche Erklärung scheinen könnte, so steht sie doch in einem gewissen Gegensatze mit den Befunden von Löffler und Abel u. s. w. und unseren eigenen Reagensglasversuchen. Denn aus den Versuchen von Löffler und Abel, R. Pfeiffer u. s. w. ergiebt sich ja gerade, dass grosse Dosen von Immunserum eine Abtödtung der Bakterien an sich verhindern. Es stünde also Beobachtung gegen Beobachtung; und doch lassen sich diese Versuche mit einander vereinigen, wenn wir eine andere Deutung des Wassermann'schen Versuches annehmen.

Injiciren wir einem Thiere das frische active Serum eines anderen, so wird ein grosser Theil der in diesem Serum vorhandenen Complemente passende Receptoren finden, sich an diesen verankern und so die Bildung von Anticomplementen hervorrufen. Andererseits ist jedoch theoretisch auch die Möglichkeit gegeben, dass einzelne der in dem Serum vorhandenen verschiedenen Complemente keine passenden Receptoren finden und für diese ist die Bildung von Anticomplementen nicht möglich. Ein solches Ausbleiben der Anticomplementbildung kann auch dann eintreten, wenn einzelne Partialcomplemente identisch sind mit Complementen desjenigen Thieres, das zur Immunisirung verwendet wird. Dann kann aus naheliegenden Gründen die Anticomplementbildung gegen die in ihrem Wesen identischen Complemente unterbleiben. — Diese theoretische Voraussetzung ist gestützt durch Beobachtungen von Ehrlich und Morgenroth, wie ich ermächtigt bin, hier kurz mitzutheilen. Jedes Immunserum ist seinerseits, wie Ehrlich und Morgenroth nachgewiesen haben, zusammengesetzt aus Amboceptoren verschiedener Art, unter einander

verschieden in ihrer haptophoren Gruppe für das Bacterium und ihrer complementophilen Gruppe. — Nehmen wir nun an, dass sich in dem Wassermann'schen Immunserum ausser der grossen Menge jener Amboceptoren, deren Complemente durch das Anticomplement unwirksam gemacht worden waren, noch ein anderer Amboceptor befunden hat, jedoch in sehr geringer Menge, der durch ein Complement reactivirt wurde, gegen welches kein Anticomplement gebildet war, so wird uns der Wassermann'sche Versuch neben den von Löffler und Abel u. s. w. verständlich. In den kleinen Dosen von Immunserum waren nur jene Amboceptoren in genügend grosser Zahl vertreten, welche dadurch für eine eventuelle baktericide Wirkung werthlos waren, dass die zu ihnen passenden Complemente durch das Anticomplement besetzt waren; jener Partialamboceptor, gegen dessen Complement kein Anticomplement vorhanden war, welcher also reactivirt werden konnte, war an Menge zu gering, um durch seine baktericide Kraft einen nennenswerthen Ausschlag zu geben. — Erst bei grossen Dosen von Immunserum wurde die Menge dieses Amboceptors genügend gross, um allein das Thier durch Abtödtung einer genügenden Zahl von Bakterien vor dem Tode zu retten. — Nach unserer Ansicht bleibt also die Verbindung Complement + Anticomplement auch bei grossen Immunserumdosen bestehen, der Heileffect im Wassermann'schen Falle ist nur darauf zurückzuführen, dass sich in diesen grossen Dosen ein zweiter Amboceptor in genügender Menge findet, der durch ein zweites Complement, gegen das kein Anticomplement gebildet war, reactivirt wird. — Dass bei unserer Annahme die grossen Dosen Immunserum das Phänomen von Löffler und Abel u. s. w. und Neisser und Wechsberg nicht hervorrufen konnten, ist ja selbstverständlich, denn derjenige Amboceptor, der sich in diesen Dosen in so grosser Menge vorfand, um das genannte Phänomen zu erzeugen, war ja ohnehin durch die Verankerung seines Complementes durch das Anticomplement von jeder Wirksamkeit ausgeschlossen.

Wir sehen, wie sich nach dem Gesagten, aus unseren bisherigen Kenntnissen über die Wirkung der baktericiden Sera eine Reihe theoretisch wichtiger Fragen, wie die der Immunität, ergeben haben, und entweder beantwortet werden konnten, oder doch der Beantwortung näher gerückt sind.

Aber auch in der praktischen, therapeutischen Anwendung der baktericiden Sera versuchte Wassermann weiterzugehen.

Wassermann[1] war es gelungen, mit Hülfe eines specifischen Immun-

[1] Wassermann. *Verhandlungen des Congresses für intern. Medicin.* 1900. — *Deutsche med. Wochenschrift.* 1900.

serums gegen Typhus, Meerschweinchen gegen eine tödtliche Dose dieses Erregers zu schützen. — Gab er aber ein bedeutendes Multiplum dieser tödtlichen Dose, so konnte er selbst durch sehr grosse Dosen von Immunserum keinen Heileffect mehr erzielen. Wassermann nahm nun auf Grund der Ehrlich-Morgenroth'schen Anschauungen an, dass es sich, da Amboceptoren jedenfalls in genügender Menge vorhanden waren, um einen Mangel an Complement handeln müsse. Er injicirte nun ausser dem Immunserum noch ein actives normales Thierserum (Rinderserum) und konnte nach dieser Zufügung von Complement Meerschweinchen gegen Typhusdosen schützen, bei welchen ihm ein Schutz durch Immunserum allein nicht gelungen war. Damit war experimentell der Beweis für die Wichtigkeit des Complementes bei baktericiden Heilversuchen geliefert. Da unsere baktericiden Sera sich in der menschlichen Therapie im Gegensatz zu den Erfahrungen der Thierpathologie (z. B. Schweinerothlaufserum) bisher noch keiner Erfolge zu erfreuen haben, so glaubte Wassermann diesen Misserfolg der baktericiden Sera auf den Mangel an Complement zurückführen zu können und empfahl daher für die baktericide Serumtherapie ausser der Injection des Immunserums noch die gleichzeitige Injection frischen complementhaltigen Serums.

Diese Frage ist von so ausserordentlicher Wichtigkeit, dass es sich zu verlohnen schien, dieselbe experimentell in Angriff zu nehmen. Namentlich ging unser Streben dahin, diese Versuche unter Bedingungen zu unternehmen, die den eventuellen Verhältnissen in der menschlichen Therapie ähnlicher waren, als im Wassermann'schen Falle.

Wassermann hatte dadurch, dass er Cultur, Immunserum und Complement vorher gemischt, gleichzeitig in einen relativ so gut abgeschlossenen Raum, wie die Peritonealhöhle injicirte, für einen eventuellen Erfolg besonders günstige Bedingungen vor sich, Bedingungen, die seinen Versuch einem Reagensglasversuch viel zu nahe stellen, und zu weit entfernt sind von den Bedingungen, die sich bei einer therapeutischen Anwendung des Immunserums ergeben.

Wir wählten zu unseren Versuchen den Vibrio Metschnikoff, als Versuchsthier die Taube. Unsere Cultur tödtete Tauben in einer Dose von $^1/_{80}$ bis $^1/_{160}$ Oese innerhalb 24 Stunden. Das Immunserum stammte von Kaninchen, die mit Vibrio Metschnikoff durch eine einmalige Injection von drei todten Culturen (entsprechend diesbezüglichen Angaben aus dem Pfeiffer'schen Institute) immunisirt worden waren.

Wie sich aus den folgenden Tabellen III und IV ergiebt, die uns einen Reagensglasversuch wiedergeben, tödtet Kaninchenserum als solches

Vibrio Metschnikoff nicht ab, vermag aber das inactive Immunserum zu reactiviren.

Tabelle III.

Culturmenge	Menge des activen normalen Kaninchenserums	Zahl der Keime auf der Platte	Bemerkungen
1/500 ccm einer 1 tägig. Bouilloncultur von Vibrio Metschnikoff	1·0 ccm	∞	
	1/2 „	∞	
	1/4 „	∞	
	1/8 „	∞	
	1/16 „	∞	
	1/32 „	∞	

Tabelle IV.

Culturmenge	Menge des inactiven Immunserums von Kaninchen	Normales actives Kaninchenserum	Zahl der Keime auf der Platte	Bemerkungen
1/500 ccm einer 1 tägigen Bouilloncultur von Vibrio Metschnikoff	0·1 ccm	1·0 ccm	0	
	0·1 „	1/2 „	0	
	0·1 „	1/4 „	0	
	0·1 „	1/8 „	vereinzelt	
	0·1 „	1/16 „	viele Tausende	
	0·1 „	1/32 „	∞	
1/500 ccm	—	—	∞	Controle I
1/500 „	0·1 ccm	—	∞	„ II
—	1·0 „	—	0	„ III
—	—	1·0 ccm	0	„ IV

Zu jedem Röhrchen 3 Tropfen Bouillon.

Alle Röhrchen mit 0·85 procent. Kochsalzlösung auf gleiches Volumen aufgefüllt, 3 Std. Thermostat, dann je 5 Tropfen aus jedem Röhrchen zu Agarplatten verarbeitet.

Das Immunserum war 1/2 Stunde bei 58° inactivirt worden.

Controle I ergiebt die Aussaat.

„ II beweist, dass das inactive Immunserum an sich nicht baktericid wirkt.

„ III „ die Sterilität des Immunserums.

„ IV „ „ „ Kaninchenserums.

Aus diesem Versuche folgt, dass das Kaninchenserum an sich nicht baktericid für Vibrio Metschnikoff ist, dass es jedoch das vom Kaninchen stammende Immunserum zu reactiviren vermag; es enthält also normaler Weise keinen Amboceptor für den Vibrio Metschnikoff, jedoch ein für einen immunisatorisch erzeugten Amboceptor passendes Complement. Diese

Verhältnisse, namentlich der Umstand, dass das normale Kaninchenserum an sich nicht baktericid wirkt, kommt der Reinheit der Versuche sehr zu statten.

Des Weiteren mussten wir uns fragen, wie sich das normale Taubenserum an sich gegenüber dem Vibrio Metschnikoff verhält und wie bezüglich der Completirung des vom Kaninchen stammenden Immunserums.

Tabelle V.

Culturmenge	Menge des normalen activen Taubenserums	Zahl der Keime auf der Platte	Bemerkungen
1/500 ccm einer 1 tägigen Bouilloncultur von Vibrio Metschnikoff	1·0 ccm	∞	
	1/2 „	∞	
	1/4 „	∞	
	1/8 „	∞	
	1/16 „	∞	
	1/32 „	∞	

Tabelle VI.

Culturmenge	Menge des normalen activen Taubenserums	Menge des inactiven Immunserums von Kaninchen	Zahl der Keime auf der Platte	Bemerkungen
1/500 ccm einer 1 tägigen Bouilloncultur von Vibrio Metschnikoff	1·0 ccm	0·1 ccm	∞	
	1/2 „	0·1 „	∞	
	1/4 „	0·1 „	∞	
	1/8 „	0·1 „	∞	
	1/16 „	0·1 „	∞	
	1/32 „	0·1 „	∞	
1/500 ccm	—	—	∞	Controle I
1/500 „	—	0·1 ccm	∞	„ II
—	—	1·0 „	0	„ III
—	1·0 ccm	—	0	„ IV

Bezüglich der Versuchsanordnung und der Controlen vergleiche Versuch in Tabelle III und IV.

Aus diesen Versuchen ergiebt sich, dass das Taubenserum an sich auch keine baktericide Wirkung auf den Vibrio Metschnikoff ausübt, dass es seinerseits aber auch nicht, wenigstens soweit uns die Reagensglasversuche darüber Auskunft geben, im Stande ist, das vom Kaninchen stammende Immunserum zu completiren.[1]

[1] Im Gegensatze dazu fand R. Kraus gelegentlich seiner Versuche über die baktericiden Eigenschaften des Taubenserums, dass dasselbe baktericid für den Vibrio Metschnikoff sei. Inwieweit derartige Differenzen in den Befunden in Racenunter-

Die Verhältnisse würden sich also, so weit wir sie bis jetzt übersehen können, folgendermaassen stellen: 1. Ein Versuchsthier (Taube), dessen Serum an sich keine baktericide Kraft für den betreffenden Erreger hat, mit dem wir die Infection vornehmen, das aber auch ein bestimmtes Immunserum nicht zu completiren vermag. 2. Ein Immunserum, für das wir ein completirendes Serum kennen, das an sich keine baktericide Kraft für das verwendete Bacterium besitzt.

Gehen wir nun zu den Versuchen am Thiere über: Eine Reihe von Tauben wird mit $^1/_{20}$ Oese von Vibrio Metschnikoff inficirt, also einem Multiplum der tödtlichen Dose. Gleichzeitig wird der einen Hälfte der Tauben Immunserum von Kaninchen, das bei 58° inactivirt wurde, in verschiedenen Dosen injicirt, die andere Hälfte der injicirten Tauben erhält ausser den gleichen Dosen Immunserum noch eine bestimmte Menge normalen activen Kaninchenserums.

Wir geben in folgender Tabelle VII einen unserer diesbezüglichen sehr zahlreichen Versuche wieder. Die Infection erfolgte in der Weise, dass die Cultur in den einen Brustmuskel injicirt wurde; die Injection des Immunserums bezw. des Immunserums und des Complement führenden normalen activen Kaninchenserums erfolgte in den anderen Brustmuskel. Dadurch waren Bedingungen gesetzt, die sich mehr denen der Praxis bei einer eventuellen therapeutischen Anwendung eines Immunserums nähern, als im Wassermann'schen Falle: die Infection an einem von der Injectionsstelle des Immunserums vollkommen getrennten Orte.

Tabelle VII.

Nr. des Versuchsthieres	Menge der Cultur von Vibrio Metschnikoff	Menge des Immunserums inactiv	Menge des normal. activ. Kaninchenserums		Bemerkungen
	injicirt in den r. Brustmuskel	injicirt in den linken Brustmuskel			
Taube Nr. 1	$^1/_{20}$ Oese	1·0 ccm	—	† am 1. Tage	
„ 2	„	0·3 „	—	† „ 1. „	
„ 3	„	0·1 „	—	† „ 1. „	
„ 4	„	0·03 „	—	† „ 1. „	
„ 5	„	0·01 „	—	† „ 1. „	
„ 6	„	0·003 „	—	† „ 1. „	
„ 7	„	0·001 „	—	† „ 1. „	

schieden des Versuchsthieres, Jahreszeit, Futterverhältnissen u. s. w. begründet sein können, möchte ich hier nur andeuten. So konnte schon **Kraus** selbst ein verschiedenes Verhalten des Taubenserums gegen Bacterium coli zu verschiedenen Jahreszeiten constatiren.

Tabelle VII. (Fortsetzung.)

Nr. des Versuchsthieres	Menge der Cultur von Vibrio Metschnikoff	Menge des Immunserums inactiv	Menge des normal. activ. Kaninchenserums		Bemerkungen
	injicirt in den r. Brustmuskel	injicirt in den linken Brustmuskel			
Taube Nr. 8	1/20 Oese	1·0 ccm	1·0 ccm	† am 1. Tage	
„ 9	„	0·3 „	1·0 „	† „ 3. „	
„ 10	„	0·1 „	1·0 „	† „ 1. „	
„ 11	„	0·03 „	1·0 „	lebt	
„ 12	„	0·01 „	1·0 „	„	
„ 13	„	0·003 „	1·0 „	„	
„ 14	„	0·001 „	1·0 „	† am 1. Tage	
„ 15	„	—	—	† „ 1. „	Controle I
„ 16	„	—	1·0 ccm	† „ 1. „	„ II
„ 17	—	—	1·0 „	lebt	„ III

Gehen wir zur Analyse dieses Versuches über, so ergiebt sich zunächst aus den Controlversuchen, dass die Dose von $^1/_{20}$ Oese eine Taube prompt am ersten Tage tödtete (Controle I), ferner dass 1·0 ccm normales actives Kaninchenserum allein den Tod nicht verhindern konnte (Controle II), drittens dass diese Menge Kaninchenserums an sich, ja wie wir aus weiteren Versuchen wissen, selbst die vierfache Dose für eine Taube irrelevant ist (Controle III).

Des Weiteren ersehen wir aber aus diesem Versuche, dass Immunserum allein (Tauben Nr. 1—7) den Tod der Versuchsthiere nicht zu verhindern vermochte. Dieses Resultat wird uns ohne Weiteres verständlich, wenn wir uns überlegen, dass nach unseren Reagensglasversuchen das Taubenserum kein für den Amboceptor des Kaninchen-Immunserums passendes Complement besitzt. Ein nicht completirter Amboceptor ist aber an sich wirkungslos, mag er auch in grossen Dosen injicirt worden sein.

In anderen Versuchen fanden wir aber, dass bisweilen einzelne Tauben, die sehr grosse Dosen inactiven Immunserums allein erhalten hatten (1·0 bis 3·0 ccm), auch ohne passive Complementzufuhr am Leben blieben. Diese Thatsache, so paradox sie auch scheinen mag, wird leicht erklärbar, wenn wir die Untersuchungsresultate von Ehrlich-Morgenroth berücksichtigen, die beweisen, dass ein Immunserum nicht nur einen, sondern verschiedene Amboceptoren enthält, davon einzelne in sehr grosser, andere nur in relativ kleiner Zahl. Für die überwiegende Zahl der im Kaninchen-Immunserum gegen Vibrio Metschnikoff vor-

handenen Amboceptoren besitzen Tauben kein Complement, dagegen giebt es Tauben, aber bei Weitem nicht alle, die scheinbar irgend eine kleine Fraction von Amboceptoren zu completiren vermögen. Injiciren wir solchen Tauben grosse Dosen inactiven Immunserums ohne Einführung eines fremden Complementes, so werden dieselben am Leben bleiben können; in kleinen Dosen des Immunserums ist dieser completirbare Partialamboceptor in zu geringer Menge vorhanden, deshalb sterben Tauben mit kleinen Dosen inactiven Immunserums regelmässig. Dass dieses Completirungsvermögen nur einzelnen Tauben zukommt, darf uns nicht Wunder nehmen, denn es ist längst bekannt, dass die Complemente auch in derselben Thierspecies von Fall zu Fall stark wechseln.

Gehen wir nun in der Deutung des in Tabelle VII wiedergegebenen Versuches weiter, so sehen wir, dass von den Tauben 8 bis 14, die ausser Immunserum noch actives normales Kaninchenserum und damit Complement erhatten hatten, drei Tauben am Leben blieben und vier starben. Es starb zunächst die Taube mit der kleinsten Dose Immunserum, dann aber auch die drei Tauben mit den grössten Dosen. Der Tod der Taube mit der kleinsten Dose des Immunserums ist durch absoluten mangel an Amboceptoren genügend erklärt. Der Tod der drei Tauben mit den grössten Dosen von Immunserum bildet einen analogen Fall zu den Befunden von Löffler und Abel u. s. w., die wir bereits des Oefteren citirt haben und für den es M. Neisser und Verfasser gelang, in dem relativen Complementmangel unter Berücksichtigung der Aviditätsverhältnisse von verankerten und nicht verankerten Amboceptoren eine Erklärung zu geben. Dagegen blieben drei Tauben mit mittleren Serumdosen am Leben. Damit ist auch für diese Versuchsanordnung der Beweis erbracht, dass es gelingt, durch Zuführung von Complement ausser dem Immunserum Thiere zu schützen, die bei einfacher Injection des Immunserums der Infection erlegen wären.

Aber selbst unter so klaren Verhältnissen, wie es die vorliegenden sind, ist der Erfolg einer Einführung von Complement in Form frischen normalen Serums ein sehr unsicherer. Denn in einer grossen Reihe von Versuchen gelang es mir nicht, die inficirten Thiere auch bei gleichzeitiger Injection von complementhaltigem Serum am Leben zu erhalten. — Diese Thiere starben ebenso, wie die anderen, die nur Immunserum erhalten hatten, innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Infection. — Der Grund für den Misserfolg wird uns leicht klar: Bekanntlich ist es verhältnissmässig sehr leicht, durch Injection eines activen normalen Serums Anticomplemente zu erzeugen, die gegen die Complemente der zur Injection verwendeten Serumart gerichtet sind. Die Grundbedingung für die Anticomplementbildung ist nach unserer An-

schauung die Verankerung des Complementes an irgend eine Zelle des betreffenden Thieres mit nachfolgender Ueberproduction des verankernden Receptors. Da aber die Anticomplementbildung sehr leicht und mit demselben Serum bei den verschiedensten Thieren gelingt, so muss auch die Möglichkeit einer Verankerung des Complementes im Thierkörper sehr gross sein. — Damit ist aber auch die Erklärung für den Misserfolg bei den Completirungsversuchen im Thierkörper, die M. Neisser schon 1899 experimentell beobachtet hatte, gegeben. Das eingeführte Complement wird sich eben nicht an den baktericiden Amboceptor, sondern an irgend eine Körperzelle oder sonst irgendwo verankern, damit aber für die Baktericidie werthlos werden. Eine Zufuhr von Complement kann also nur dann Aussicht auf Erfolg haben, wenn das betreffende Thier selbst keine das Complement verankernden Receptoren besitzt, oder wenn die Avidität zu dem baktericiden Amboceptor zufällig eine so grosse ist, dass trotz vorhandener Receptoren im Thierkörper doch die Kuppelung des Complementes an den Amboceptor des Immunserums erfolgt. Wir würden es daher als Grundbedingung für den sicheren Erfolg bei derartigen Completirungsversuchen im Thiere fordern, dass wir durch Injection der completirenden Serumart bei dem betreffenden zu heilenden Thiere keine Anticomplemente erzeugen können.

Wir haben uns natürlich durch geeignete Reagensglas- und Thierversuche (Meerschweinchen-Bauchhöhle) in den negativen Fällen davon überzeugt, dass das Immunserum thatsächlich ein solches war, ein Einwand, der ja immerhin in Frage kommen konnte.[1]

Die günstigeren Resultate Wassermann's in dieser Beziehung können nur darauf zurückgeführt werden, dass er eben das abgeschlossene Cavum der Bauchhöhle des Meerschweinchens als Ort der Infection wählte und Bakterien, Immunserum und Complement gemischt in dieselbe injicirte. Dadurch schloss er die Ablenkung des Complementes durch den Organismus des Thieres aus.

Schon Ehrlich und Morgenroth haben in ihrer letzten Publication über Hämolysine (VI. Mittheilung) darauf hingewiesen, dass „der Complementgehalt des Serums der grösseren, für therapeutische Zwecke in Betracht kommenden Versuchsthiere gewöhnlich nicht bedeutend genug ist,

[1] Meerschweinchen werden bei intraperitonealer Infection und gleichzeitig injicirtem Kaninchen-Immunserum, ohne Zufuhr von Complement, sicher geschützt, besitzen also selbst ein zu dem Amboceptor des Kaninchen-Immunserums passendes Complement. — Aus diesem Versuche ergiebt sich auch, dass ein Immunserum nicht alle Thiere gegen die Infection mit demselben Erreger zu schützen vermag. (Analogie zu den Sobernheim'schen Milzbrandversuchen.)

dass eine Verwendung beim Menschen angängig erscheint". So bedurfte Wassermann bei seiner ausserordentlich günstigen Versuchsanordnung 4·0 ccm Ochsenserum, um einen Heilerfolg zu erzielen. Damit war die Frage, die schon von Dönitz aufgeworfen worden war, ausgiebige Complementquellen zu finden, wieder acut geworden, und man dachte daran, künstlich den Complementgehalt der Sera zu steigern. Aber die bisherigen Versuche Wassermann's als auch eigene in dieser Richtung gemeinschaftlich mit Hrn. Prof. M. Neisser angestellte Versuche verliefen resultatlos.

Doch gesetzt den Fall, es würde gelingen, einen Weg zu finden, der auch in dieser Richtung zum Ziele führt, so erscheint uns die Hoffnung, die Wirkung der baktericiden Heilsera durch Complementzufuhr mittels fremder Sera unter Verhältnissen zu steigern, wie sie bei einer eventuellen therapeutischen Anwendung beim Menschen gegeben sind, nach dem Ausfall unserer Versuche mehr als fraglich. Denn aus unseren Versuchen ergiebt sich, dass bei einer Thierspecies, bei welcher theoretisch eine Complementzufuhr Nutzen schaffen kann, und bei welcher auch der Versuch die Richtigkeit der theoretischen Ueberlegung bestätigt, so bedeutende individuelle Schwankungen bestehen, dass der Procentsatz der Heilungen sehr herabgedrückt wird.

Fassen wir nun noch einmal kurz die in unseren Versuchen vorliegenden Verhältnisse zusammen, so haben wir es mit einem baktericiden Immunserum zu thun, indem wir zum Mindesten zwei Fractionen von Amboceptoren annehmen müssen. Für die eine grössere Fraction besitzen Tauben kein Complement, die zweite, weit kleinere Fraction kann von einzelnen Tauben completirt werden. Dagegen besitzt das normale Kaninchenserum reichlich passendes Complement, ob nur für die grössere Fraction der Amboceptoren, oder für beide müssen wir unentschieden lassen, doch scheint uns der zweite Fall als der wahrscheinlichere. Mit diesem Serum gelingt auch die Completirung im Thierversuch, jedoch nur in einem gewissen Procentsatz der Fälle, und versagt in den anderen, weil das Complement augenscheinlich anderweitig im Thierkörper gebunden wird. Wir sehen also, wie complicirt die Verhältnisse in einem relativ so einfachen Falle, wie es der unserige ist, liegen, wobei wir noch lange nicht behaupten wollen, dass mit den hier angegebenen schon die Reihe der eventuell vorhandenen Möglichkeiten erschöpft ist. Wir möchten z. B. nur noch kurz das Vorkommen normaler Anticomplemente erwähnen, das von M. Neisser und Verf. bereits an anderer Stelle erwähnt worden ist und bald darauf unabhängig davon von T. R. Müller[1] bewiesen wurde.

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* 24. Juni 1901.

Durch die Immunisirung mit Bakterien erzeugen wir in dem betreffenden Thiere eine Reihe von Amboceptoren, der Complementgehalt des Serums wird aber, soweit unsere bisherigen Erfahrungen wenigstens reichen, nicht verändert.

Würden wir also Tauben mit todten Culturen von Vibrio Metschnikoff immunisiren, so würden wir in diesen Thieren die Production von Amboceptoren hervorrufen. Da aber Tauben kein Complement für den Amboceptor gegen Vibrio Metschnikoff besitzen, so müssten so activ mit todten Culturen immunisirte Tauben trotz der reichlich in ihrem Serum vorhandenen Amboceptoren in Folge Mangels des Complementes einer späteren Infection mit lebender Cultur erliegen. Diese Deduction ist jedoch nur für den Fall gültig, dass der von Tauben producirte Amboceptor identisch ist mit dem im Serum activ immunisirter Kaninchen vorhandenen. Ist der Tauben-Amboceptor aber verschieden von dem Kaninchen-Amboceptor, so ist auch theoretisch die grosse Wahrscheinlichkeit gegeben, dass für diesen Tauben-Amboceptor im Taubenserum ein passendes Complement sich findet. Diese Frage ist theoretisch und praktisch gleich wichtig.

Zur Lösung derselben wurde eine Reihe von Tauben activ mit todter Cultur in der Weise immunisirt, dass die Versuchsthiere zwei Mal in einem Intervall von zehn Tagen je eine halbe Agarcultur von Vibrio Metschnikoff erhielten, die durch Erhitzen (1 Stunde 65°) abgetödtet worden war. — Zehn Tage nach der letzten Injection erhielten die Thiere eine mehrfach tödtliche Dose ($^1/_{20}$ Oese) von lebendem Vibrio Metschnikoff injicirt. Das Resultat des Versuches war, dass sämmtliche Tauben am Leben und vollkommen gesund blieben.

Dieses Resultat ist nur dann zu erklären, wenn man annimmt, dass **der bei Immunisirung von Tauben mit Vibrio Metschnikoff entstehende Amboceptor im Taubenserum ein passendes Complement findet.**

Ein Reagensglasversuch brachte uns die gewünschte Aufklärung; derselbe erscheint in Tabelle VIII und IX wiedergegeben.

Tabelle VIII.

Culturmenge	Tauben-Immunserum activ	Zahl der Keime
$^1/_{500}$ ccm einer 1 tägigen Bouilloncultur von Vibrio Metschnikoff	1·0 ccm	Sehr starke und deutliche Wachsthumshemmung, bez. Zahl der Colonieen.
	0·5 „	
	0·25 „	
	0·1 „	Nachweisbare Wachsthumshemmung.

Tabelle VIII. (Fortsetzung.)

Culturmenge	Tauben-Immunserum activ	Zahl der Keime
$^1/_{500}$ ccm einer 1 tägigen Bouilloncultur von Vibrio Metschnikoff	0·05 ccm	∞
	0·025 „	∞
	0·01 „	∞
	0·005 „	∞
	0·0025 „	∞

Tabelle IX.

Culturmenge	Tauben-Immunserum inactiv	Normales actives Taubenserum	Zahl der Keime	Bemerkungen
$^1/_{500}$ ccm einer 1 tägigen Bouilloncultur von Vibrio Metschnikoff	1·0 ccm	0·5 ccm	etwa 100	
	0·5 „	0·5 „	einige Hunderte	
	0·25 „	0·5 „	viele Hunderte	
	0·1 „	0·5 „	viele Tausende	
	0·05 „	0·5 „	„ „	
	0·025 „	0·5 „	„ „	
	0·01 „	0·5 „	„ „	
	0·005 „	0·5 „	∞	
	0·0025 „	0·5 „	∞	
$^1/_{500}$ ccm	—	—	∞	Controle I
$^1/_{500}$ „	1·0	—	∞	„ II
$^1/_{500}$ „	—	0·5	∞	„ III
—	1·0	—	0	„ IV
—	—	1·0	0	„ V

Bezüglich Versuchsanordnung und Controlen vergleiche Tabelle III und IV.

Wir ersehen aus diesem Versuche, dass das active Serum in der oben angegebenen Weise immunisirter Tauben eine deutliche baktericide Wirkung ausübt. — Des Weiteren ergab sich aber aus diesem Versuche, dass das inactive Tauben-Immunserum im Gegensatze zum Kaninchen-Immunserum durch normales actives Taubenserum completirt wird, dass also der bei der Immunisirung von Tauben entstehende Amboceptor ein Complement im normalen Taubenserum findet. Aus diesem Verhalten können wir schliessen, dass der Amboceptor des Tauben-Immunserums zum Mindesten in seiner complementophilen Gruppe verschieden ist von dem Amboceptor des Kaninchen-Immunserums. Nach Analogie mit anderen Immunseris dürfen wir übrigens annehmen, dass es sich auch hier nicht um einen einheitlichen Amboceptor, sondern um Schaaren verschiedener Amboceptoren handelt.

Das Wesentliche und Wichtige dieses Versuches für eine eventuelle therapeutische Anwendung baktericider Sera liegt aber darin, dass in diesem Falle, in dem der Amboceptor sein Complement in dem Versuchsthiere selbst fand, alle Thiere gegen eine tödtliche Infection geschützt wurden.

Wenn es uns also gestattet sein sollte, aus unseren Versuchen einen Rückschluss auf den Weg zu machen, den wir zur Erzielung wirksamer baktericider Sera für die menschliche Therapie einschlagen müssen, so wäre es der folgende:

Die für die menschliche Therapie verwerthbaren baktericiden Sera müssen so beschaffen sein, dass ihre Amboceptoren in möglichst ausgedehntem Maasse im menschlichen Serum selbst die passenden Complemente finden. Die gleichzeitige Einführung eines Immunserums und des completirenden Serums, wobei es bis zu einem gewissen Grade gleichgültig ist, inwieweit das betreffende Immunserum durch das menschliche Serum selbst completirt wird, erscheint uns nach unseren Versuchen unzuverlässig.

Damit würden wir uns für den zweiten der beiden Wege entscheiden, die Ehrlich in der Croonian Lecture vom 22. März 1900 als diejenigen präcisirt hat, auf denen sich unsere Bestrebungen zur Erzielung wirksamer baktericider Sera bewegen müssen. Es sei mir gestattet, den bebetreffenden Abschnitt verbaliter wiederzugeben:

„From this it appears, that in the therapeutic application of antibacterial sera to man, therapeutical success is only to be attained if we use either a bacteriolysine with a „complement", which is stable in man („homostabile complement"), or at least a bacteriolysine, the „immune body" (Amboceptor nach Ehrlich's neuer Nomenclatur) of which finds in human serum an appropriate „complement". The latter condition will be the more readily fulfilled the nearer the species employed in the immunisation process is to man. Perhaps the non-success which as yet has attended the employment of typhoid and cholera serum will be converted into the contrary if the serum be derived from apes and not taken from species so distantly removed from man as the horse, goat or dog."

Ob dies der Weg ist oder derjenige sich als der praktischere erweist, den Ehrlich und Morgenroth in ihrer letzten Hämolysinarbeit angegeben haben, nämlich der der Mischung von Immunseris, die von verschiedenen Thieren stammen, müssen weitere Untersuchungen ergeben. Ich war aus äusseren Gründen gezwungen, diese interessanten Unter-

suchungen abzubrechen und konnte namentlich der Frage nicht mehr näher treten, wie sich in unserem Falle ein Immunserum bewähren würde, das von Thieren stammt, die der Taube näher stehen als das Kaninchen. Doch dürfte die Bearbeitung dieser Frage von anderer Seite am hiesigen Institute fortgeführt werden.

Nur mit dem stetigen Ausbau unserer theoretischen Kenntnisse können wir es hoffen, Grundsätze zu finden, nach denen es uns gelingt, therapeutisch verwendbare baktericide Sera zu finden und damit den baktericiden Heilseris dieselbe Stellung in der Therapie zu verschaffen, den bis zu einem gewissen Grade die antitoxischen bereits einnehmen.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, Herrn Geh. Rath Prof. Dr. Ehrlich und Herrn Prof. Dr. M. Neisser, in dessen Abtheilung und unter dessen Leitung die vorstehende Arbeit ausgeführt wurde, meinen besten Dank zu sagen.

Frankfurt a. M., im Juli 1901.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Zürich.]

Ueber anaërobe Bakterien im normalen Säuglingsstuhle.

Von

Dr. A. Rodella,
Assistenten am Institut.

(Hierzu Taf. I u. II.)

Die Wichtigkeit der Frage, ob im Stuhlgange der Säuglinge Anaëroben existiren oder nicht, wurde schon von Escherich erkannt, welcher sich folgender Weise in seinem Werke ausdrückt: „Von besonderem Interesse erschien mir anfänglich die Cultur etwaiger anaërober Arten, die vielleicht gegen Contact mit Sauerstoff sehr empfindlich und so den gewöhnlichen Untersuchungsmethoden entgangen sein könnten."

Was die Technik anbelangt, welcher sich Escherich bediente, um diese Frage zu studiren, kann man schon sagen, dass er alle damals für die Züchtung der Anaëroben bekannten Methoden (wie die überschichteten Platten, Verwendung von Culturen im Innern von Eiern oder unter Quecksilberabschluss) prakticirte, aber es ergab sich ihm immer ein negatives Resultat, so dass er daraus schloss, „dass ihm überhaupt in Uebereinstimmung mit Hüppe die Existenz solcher Wesen (der Anaëroben) sehr fraglich zu sein scheint".

Escherich's Misserfolg, durch den Mangel und die Mittelmässigkeit der damals gebrauchten Methoden gerechtfertigt, scheint auch noch einen Einfluss auf die nachher erschienenen zahlreichen Arbeiten über dieses wichtige Kapitel gehabt zu haben, denn in diesen erschien nie mehr ein Wort über anaërobe Bakterien in den Stuhlgängen der Säuglinge, wenigstens nicht in physiologischer Beziehung.

Nur Klein gelang es, einen anaëroben Bacillus aus diarrhoischen Entleerungen von kleinen Kindern zu isoliren, welchen er als den Krankheitserreger bezeichnet und Bacillus enteritidis sporogenes nennt.

Uebrigens, obwohl wir in Flügge lesen „stets finden sich im Darminhalt Anaëroben“, denkt doch, auch was die Erwachsenen anbetrifft, die Mehrheit der Autoren verschieden. So glaubt Miller, dass sich keine obligaten Anaëroben im Darm befinden, sondern nur Bakterien, welche sowohl aërob wie anaërob wachsen können.

Auch die neuerlichen Untersuchungen von Bienstock könnten einem glauben machen, die eingeführten Anaëroben seien bestimmt, während ihrem Aufenthalt im Darmtractus abzusterben. In der That nahm genannter Autor während drei Wochen täglich Erde zu sich, die Anaëroben-Mikroorganismen enthielt, fand aber in seinem eigenen Stuhle keinerlei Zeichen von der Gegenwart solcher Wesen vor.

Trotzdem ist bekannt, dass andere Forscher die Gegenwart anaërober Bacillen, d. h. des Bacillus butyricus Botkin und des Bacillus butyricus Prazmowski in den Fäces des Menschen nachgewiesen haben (Mannaberg). Die vergleichenden Forschungen über die Fäces der Thiere führten zu einem wenig übereinstimmenden Resultat.

So schreibt Flügge: „Besonders reich an solchen Anaëroben erwiesen sich die Därme der Pflanzenfresser.“

Hammerl konnte aber in den Entleerungen verschiedener Thiere niemals Anaëroben entdecken.

Klein dagegen glaubt die fortwährende Gegenwart von Anaëroben in den Fäces der Meerschweinchen bewiesen zu haben.

In einer vor kurzer Zeit erschienenen Arbeit von Kohlbrugge wird der Wunsch ausgesprochen, dass weitere Untersuchungen über die Darmanaëroben vorgenommen werden.

Verfasser genannter Arbeit zweifelt aber sehr daran, ob wohl solche Wesen fortwährend im Darm vorkommen.

Diese wenigen Notizen auch über die neue Litteratur zeigen, dass wir sehr wenig wissen, was die Gegenwart der Anaëroben im Darmtractus sowohl des Menschen wie der Thiere betrifft.[1]

Wenn man nun bedenkt, dass gerade die Anaëroben diejenigen Lebewesen sind, welche vornehmlich die Gährungs-, Fäulniss- und andere Zersetzungen bewirken, so lässt sich leicht ermessen, wie sehr diese mangelhafte Kenntniss besonders von der Physiologie empfunden werden muss.

[1] Nach der Drucklegung dieser Arbeit habe ich das interessante Werk von H. Tissier, *Recherches sur la flore intestinale normale et pathologique du nourisson*. Paris 1900, gelesen, worin u. a. auch drei neue anaërobe Arten angeführt werden. Dieselben sind von der hier beschriebenen ganz verschieden. In einer weiteren ausführlichen Abhandlung gedenke ich die Resultate von Tissier zu verwerthen.

Der Zweck der vorliegenden Arbeit war, zu ermitteln: 1. ob in physiologischem Zustande in den Fäces der Säuglinge Anaëroben existiren; 2. welchen Einfluss die Verschiedenheit der Milchernährung (natürliche oder künstliche) auf das Vorkommen solcher Mikroorganismen ausübt; 3. ihre biologische Wichtigkeit in Bezug auf die Vorgänge im Verdauungscanal kennen zu lernen. Nicht allein der Gedanke an grössere Finfachheit und Einheitlichkeit, mit welcher die Verdauungsfunctionen sich während dem frühesten Kindesalter abwickeln, war in Betracht zu ziehen; noch mehr veranlasste mich zu dieser Arbeit das Bewusstsein, dass in keinem anderen Alter die Ernährung und Verdauung eine solche capitale Wichtigkeit besitzt und dass einzig die Kenntniss der physiologischen Gährungsvorgänge und der Ursachen, welche sie erzeugen, der Ausgangspunkt des Studiums der in diesem Alter so häufigen pathologischen Processe, d. h. der Darmkrankheiten, sein muss.

Beziehungen zwischen makroskopischem und mikroskopischem Aussehen der Fäces. — Culturmethoden.

Zur Gewinnung des Materials verwandte ich ein beiderseits abgerundetes, hinten mittels eines Wattepfropfens verschlossenes Glasröhrchen, welches in einem Reagensglase sterilisirt wurde.

Von dem so gewonnenen Material beschrieb ich jedes Mal die makroskopischen Eigenschaften und prüfte mit dem Lackmuspapier die Reaction und nahm dann die mikroskopische Untersuchung vor, worauf ich zur Anlegung der Kulturen schritt. Die mikroskopischen Eigenschaften der Fäces betreffend möge man mir hier gestatten, das in einer früheren Arbeit Gesagte zu bestätigen, wobei ich hier einige genauere Details zu geben gedenke. Moro sagt in seiner Arbeit, dass die Fäces der Brustkinder wegen der Homogenität der Flora (welche nach der Gram'schen Methode sich nicht entfärbt) sich schon bei der mikroskopischen Untersuchung erkennen lassen, so dass man durch blosse Anwendung des Mikroskopes herausbringen könnte, ob ein Kind, welches ausschliesslich an der Mutterbrust genährt werden sollte, auch nur ein einziges Mal Kuhmilch erhielt. Ferner fügt er hinzu, dass bei Flaschenkindern die Flora sehr mannigfaltig ist und dass die Formen, welche sich nach der Methode Escherich-Weigert roth färben, vorherrschen oder sehr zahlreich sind.

Trotzdem nun Moro unbestreitbar das Verdienst zukommt, in eine Sache Einheit und System gebracht zu haben, welche man sich bis dahin vielförmiger und mannigfaltiger vorstellte als sie thatsächlich ist, muss ich dennoch, gestützt auf mehr als einjährige Beobachtungen,

sagen, dass die Angaben Moro's nicht völlig den Thatsachen entsprechen, wenigstens nicht mit der Sicherheit, womit er sich ausdrückt. Erstens erhält man, wie ich früher schon bemerkte, dasselbe Resultat bei vielen directen Stuhlpräparaten von Flaschenkindern wie bei solchen von Brustkindern, d. h. es finden sich auch in diesen die sogenannten säureliebenden Bacillen vorherrschend vor (Taf. I Fig. 2). Letztere kommen etwa wie Dyphtheriebacillen lange Stäbchen vor, welche gerade oder gebogen sind und manchmal zugespitzte Enden aufweisen.

Andererseits geschieht es nicht selten, dass auch in mikroskopischen Stuhlpräparaten von durchaus gesunden Brustkindern neben den sogenannten säureliebenden specielle Formen zum Vorschein kommen, wie z. B. jene, die Escherich „punktirte Bacillen“ nannte, und noch verschiedene andere Mikroorganismen. Eine wesentlich beständigere Beziehung als in der Artder Milchernährung habe ich zwischen den makroskopischen und mikroskopischen Eigenschaften der Fäces gefunden.

Die Fäces von eidottergelber Farbe, weicher Consistenz und leichtsaurer Reaction, solche also, welche als Normaltyp des Säuglingsstuhls beschrieben werden, seien sie nun von Brustkindern oder von Flaschenkindern, weisen in den directen mikroskopischen Präparaten immer die als säureliebend bezeichneten Bacillen in grosser Anzahl oder fast allein auf. Die anderen Stühle, ebenfalls von gesunden Kindern, zeigen fast immer, ob von Brust- oder Flaschenkindern stammend, eine grössere oder geringere Mannigfaltigkeit. Die sogenannten säureliebenden Bacillen wurden bei Brustkindern häufiger als bei Flaschenkindern gefunden, aus dem einfachen Grunde, weil die Fäces von sogenanntem idealen Typus bei den ersteren in grösserer Häufigkeit beobachtet werden als bei der zweiten. —

Nachdem ich das Material mikroskopisch untersucht und mit Lackmuspapier die Reaction geprüft hatte, handelte es sich darum, die Technik für das Studium der Anaëroben zu bestimmen. Vor allem musste ich daran denken, den grösstmöglichsten Theil der Aërobien, welche im Darm enthalten sind, zu eliminiren, speciell den Bac. coli, welcher durch schnelle und kräftige Entwickelung die anderen Arten überwuchert. Zu diesem Zwecke bin ich anfänglich folgendermaassen verfahren: Impfung von vielem Material in 1procentiger Essigsäure-Bouillon (Heymann'sche Methode) unter strenger Anaërobiose; nach 24stündigem Aufenthalt im Brütschrank Ueberimpfung auf Gelatine anaërob.

Zu dieser Methode veranlasste mich der Umstand, dass Bac. coli und viele andere Mikroorganismen die Bouillon mit 1 Procent Essigsäure schlecht ertragen, und dass andererseits die sogenannten säureliebenden, welche sich sehr gut in solchem Substrat entwickeln, in Gelatine nicht wachsen, und so kam ich auf den Gedanken, zu probiren, ob anaërobe

Species, welche solcher Säure widerstehen, sich in dieser Weise isoliren liessen. Diese Methode zeigt grosse Mängel, u. a., auf einen so wichtigen Nährboden wie der Agar verzichten zu müssen, weshalb ich sofort beschloss, auch das folgende Verfahren anzuwenden: Verdünnung und Aufschwemmung der Fäces in etwas Bouillon. Das so verdünnte Material wurde auf drei Theile flüssigen Agar (80° C.) vertheilt (0·2 bis 0·5 grm pro Dosis). Zwei Röhrchen wurden 8 Minuten, das andere 12 Minuten auf 80° belassen. Dasselbe geschah mit drei Gelatineproben. Diese zweite Methode erwies sich als der ersten (nämlich derjenigen mit der Essigsäure) überlegen. Um dieses Verfahren noch sicherer zu gestalten, könnte man die Zeitdauer der Erwärmung auf 80° beliebig variiren (z. B. 3—5—8—10 Minuten).

Um die Anaërobiose herzustellen, habe ich mich immer des folgenden Verfahrens, als des einfachsten und schnellsten, bedient: Verflüssigung des Agars und der Gelatine, Impfung des Materials, wobei nicht geschüttelt, sondern mit Platindraht recht gut gerührt wird, und dann das Substrat erstarren gelassen. Diese Methode hat den Uebelstand, dass man oft, wenn man die Colonieen von oben nicht herausbekommen kann, das Reagensglas zerbrechen muss, um dieselben zu isoliren. In diesem Falle wusch ich das Röhrchen äusserlich erst mit Sublimat und dann mit Alkohol und zerschlug sie mit einem an der Flamme sterilisirten Eisen. Eine weitere Regel ist die, die Entwickelung der angelegten Culturen genügend lange abzuwarten, da das Wachsthum der Anaëroben oft sehr langsam vor sich geht.

Reinculturen der isolirten anaëroben Bakterien.

Um der grösseren Klarheit willen und um unnütze Wiederholungen zu vermeiden, will ich schon an dieser Stelle die von mir beobachteten Species beschreiben. Die Fälle, welche das Material für die Untersuchungen lieferten, werden weiter unten besprochen. Die von mir isolirten Species mit schon bekannten zu identificiren, war mir nicht möglich. Dies mag vielleicht anderen Forschern gelingen, wenngleich es mir Angesichts der Unvollständigkeit, welche jetzt noch im Kapitel der Anaëroben herrscht, keineswegs als eine leichte Aufgabe erscheint. Ausser den Textbüchern hatte ich andere specielle Abhandlungen zur Hand, u. a. auch diejenigen von Gerstner, von Sanfelice, von Veillon et Zuber, ohne unter den schon bekannten Species welche zu finden, die meinen entsprochen hätten, weshalb ich diese, wenigstens vorläufig, als neue betrachten muss. Zwar hatte Escherich, sehr wahrscheinlich in den directen mikroskopischen

Präparaten und ohne sie züchten zu können, die beiden Bacillen gesehen, welche ich als Bacillus Nr. 2 und Nr. 3 bezeichnen werde.

Der Bacillus putrificus Bienstok, welchen Escherich mit seinen Köpfchenbakterien indentificirt hatte, hat mit meinem Bacillus Nr. 3 im mikroskopischen Aussehen eine gewisse Aehnlichkeit; andere Merkmale (Beweglichkeit, Verflüssigung der Gelatine u. s. w.) gestatten keine Identificirung. An dieser Stelle möchte ich noch erwähnen, dass, während Escherich die Köpfchenbakterien der reinen Meconiumflora zugeschrieben hatte, ich dieselben auch in dem Milchkoth gefunden habe. Die drei von mir isolirten Anaëroben zeigen folgende gemeinsame Eigenschaften: Sporenbildung — Gasbildung — kein Gelatine verflüssigendes Vermögen.

Bacillus Nr. 1.

Stäbchen von wechselnder Länge, gerade oder seltener gebogen, mit Neigung zu Fädenbildung. Sporen in den kürzeren Formen theils mittel-, theils endständig oval bis kugelig. Selten kann man auf beiden Enden eines Bacillus eine Spore beobachten. Eigenbewegung fehlt. (Taf. I, Fig. 4.)

Die Färbung gelingt leicht mit den üblichen Anilinfarbstoffen und auch nach Gram. Die blaue Färbung mit Jodlösungen habe ich nie beobachtet. Wachsthum sowohl bei 37° wie bei Zimmertemperatur.

Agarstich. Das Wachsthum beginnt erst 1 bis $1^1/_2$ cm unter der Oberfläche und erfolgt längs dem ganzen Stiche in Form eines unregelmässig contourirten mit drusigen Auswüchsen besetzten Bandes (Taf. II, Fig. 2). Bei Impfung in verflüssigtem und nachher erstarrten Agar können die gut isolirten Colonieen im Laufe einer bis zwei Wochen in den unteren Theilen des Reagensglases die Grösse einer Erbse erreichen.

Sie zeigen einen flockigen, unregelmässigen, rundlichen-Bau mit etwas compacterem, dunklerem Centrum. Es findet auch gewöhnlich im Zuckeragar Gasbildung statt. Ferner zeichnen sich die Culturen durch einen üblen Geruch aus, welcher an Skatol erinnert und sehr penetrant ist.

Gelatinestich. Trotz wiederholten Versuchen gelang es nicht, ein Wachsthum längs dem ganzen Stiche zu erhalten; es kamen höchstens zwei getrennte Colonieen zur Entwickelung. Auch bei Ueberimpfung von sehr viel Material mittels des Platindrahtes blieb sehr häufig jedes Wachsthum aus.

Bei Impfung in verflüssigte und nachher erstarrte Gelatine zeigten die Colonieen die Eigenschaft, lange, strahlenförmige, geschlängelte Ausläufer zu bilden, was bei Agarculturen nicht der Fall war. Denn diese hatten, wie oben bemerkt, einen watteähnlichen Bau, währenddem die

Colonieen in Gelatine rund, scharf begrenzt und mit vielen langen, geschlängelten Ausläufern versehen waren. (Taf. II, Fig. 1.)

Einige Male war ein Centrum nicht zu erkennen, sondern nur ein Geflecht von Zweigen. Auch in alten Culturen wurde die Gelatine niemals verflüssigt. Der Geruch der Gelatineculturen ist etwas schwächer als der der Agarculturen.

Bouilloncultur (anaërob). In den drei ersten Tagen findet eine starke Trübung der Flüssigkeit mit bedeutender Gasentwickelung statt. Dann hellt sich die Bouillon auf und am Grunde des Reagensglases befindet sich ein zusammenhängender Bodensatz, welcher beim Schütteln fetzenartig herumschwimmt. Auch in der Bouillon ist der charakteristische Geruch wahrnehmbar.

Milchcultur. Die aërobe Kultur in der Milch zeigt in den ersten Tagen keine Veränderung; nach 5 bis 6 Tagen nimmt sie eine Rosafarbe an und wird peptonisirt. In der Flüssigkeit befinden sich viele feine Gerinnsel; eine Gerinnung im wahren Sinne des Wortes findet aber nicht statt. Die obere Rahmschicht bleibt unverändert und bildet auf der Oberfläche eine dicke Schicht, welche das Wachsthum dieses Anaërobius ermöglicht. Charakteristisch ist der Geruch nach Skatol, welcher in dieser Cultur noch ausgesprochener ist als in allen anderen.

Die Milchpeptonisirung von Seite dieses nicht verflüssigenden Bacillus steht in directem Widerspruch mit der Annahme von Eyckmann, dass „caseïnspaltendes und leimverflüssigendes Vermögen stets zu einander quellen und dass beide Ausbreitungsgebiete sich genau decken“.

Pathogenität.

Der soeben beschriebene Mikroorganismus erwies sich für alle Laboratoriumsthiere, d. h. für Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen in hohem Maasse pathogen.

Es wäre zwecklos, die ausführlichen Protokolle der Thierobductionen hier wiederzugeben. Ich beschränke mich darauf, die Resultate derselben in Kürze anzuführen.

Subcutane Injection. Kaninchen im Gewicht von etwa 1000 ^{grm} mit 2 ^{ccm} einer 5—8tägigen Bouilloncultur geimpft, gehen binnen einer Woche zu Grunde.

Der interessante Befund ist, neben einer starken Abmagerung, das subcutane Oedem, welches schon einige (3 bis 5) Stunden nach der Impfung an der Injectionsstelle zum Vorschein kommt.

Von da aus verbreitet sich das sulzige, geruchlose Oedem gegen die benachbarten Körpertheile, so dass in manchen Fällen mehr als die Hälfte

des Körpers ödematös erscheint. In der Oedemflüssigkeit sind die Bacillen in nicht sehr grosser Anzahl zu finden. Ferner findet man bei der Section: Vermehrung der Intraperitonealflüssigkeit; Hyperämie der Darmgefässe; acute Nephritis. — Die Milz ist nicht vergrössert.

Versuche mit Meerschweinchen und Mäusen führten zu ähnlichen Resultaten.

Mit Injectionen von grossen Quantitäten ($1^1/_2$ bis 2^{ccm}) tritt bei Mäusen der Tod schon binnen 24 Stunden ein.

Intraperitoneale Injectionen. 12 bis 24 Stunden nach der Impfung mit Bouillonculturen sind die Thiere krank. Nach 2 bis 3 Tagen zeigen sich Brechanfälle; die Thiere fressen wenig oder gar nichts und im Verlaufe von 2 bis 3 Tagen gehen sie unter einer sehr starken Abmagerung zu Grunde.

Sectionsergebniss. Auch bei intraperitonealer Impfung beobachtet man an der Injectionsstelle ein geringgradiges subcutanes Oedem.

Die Peritonealflüssigkeit ist vermehrt. Die Darmgefässe sind injicirt. Die Milz ist etwas verkleinert. Ferner acute Nephritis. In dem Pleuralraum findet sich in sehr grosser Quantität eine citronengelbe, zum Theil blutige Flüssigkeit, worin culturell und mikroskopisch die geimpften Bacillen nachgewiesen werden konnten.

Ich wollte auch versuchen, ob der in Frage stehende Mikroorganismus, per os und per anum im Thierkörper eingeführt, schädlich gewirkt hätte.

Mittels einer sterilisirten Klystierspritze wurden einem Hunde 150^{ccm} einer 10 tägigen Bouilloncultur per anum eingespritzt. Ein anderer Hund bekam Futter, welches mit älteren Milchculturen vermengt wurde, zu fressen.

Beide Hunde sind gesund geblieben.

Bacillus Nr. 2.

Die Form dieses Bacillus ändert sich nach den verschiedenen Phasen seiner Entwickelung. Im Stadium der Sporenbildung zeigt er sich in Form eines Weberschiffchens oder eines sehr kurzen plumpen Bacillus mit abgerundeten Enden, wo in der Mitte sich die Spore befindet. (Taf. I, Fig. 5). Der reife Bacillus ist ein Stäbchen welches, nämlich auf festen Nährböden, zu ziemlich langen Fäden anwachsen kann. (Taf. I, Fig. 6.)

Manchmal begegnet man, aber doch seltener, hauptsächlich in flüssigen Nährböden, Formen, welche in Gestalt einer Birne oder einer langen Flasche sich zeigen.

Die Bacillen sind meist vereinzelt, zuweilen parallel angeordnet, seltener reihen sie sich in Ketten an einander.

Eigenbewegung habe ich nie beobachtet. Die Färbung gelingt gut mit allen üblichen Farbstoffen und auch nach Gram.

Gelatinestich. Das Wachsthum der Colonieen erfolgt 1 bis 2 ^{cm} unter der Oberfläche, nicht längs des ganzen Stiches in dichter Reihenfolge, sondern nur in weiteren Abständen. (Taf. II, Fig. 2.) In den ersten Tagen sind die Colonieen klein, weiss, rundlich und homogen. Später treten bei jeder Colonie Wolken auf, die mit dem Alter der Cultur ihre Grössen- und Formverhältnisse ändern. Anfänglich sind diese Wolken klein, später jedoch wachsen einzelne theils in gerader Richtung, theils in Windungen aus, und man kann gleichzeitig die Beobachtung machen, dass einzelne Colonieen ihre ursprüngliche Lage verändern und seitlich aus der Stichrichtung heraustreten.

Da dieser Bacillus ein gasbildender ist, so wäre es möglich, dass auch in den Culturen, in welchen keine makroskopische Gasenentwickelung zu constatiren war, sich dem Auge unsichtbar Gas gebildet hätte, welches die Colonieen aus einander trieb.

In flüssig geimpfter und nachher erstarrter Gelatine sind die Merkmale der einzelnen Colonieen, besonders die Wolken- und Gasbildung, noch deutlicher. (Taf. II, Fig. 5.)

Agarstich. Das Wachsthum erfolgt 1 bis 2 ^{cm} unter der Oberfläche in Form eines unregelmässig eingeschnürten Stranges, auf welchem stellenweise kleine rundliche Colonien sichtbar sind.

Schon nach 1 bis 2 Tagen tritt in dem Nährboden Gasentwickelung auf.

In flüssig geimpftem und nachher erstarrtem Agar sieht man schon nach einem Tage in der Tiefe des Röhrchens kleine runde, weisse, Colonieen. Bald darauf tritt eine so starke Gasentwickelung auf, dass der Nährboden zerrissen und gegen die Rohröffnung getrieben wird.

Agarstrich (anaërob). Längs des ganzen Striches sieht man dicht an einander gereiht rundliche, ziemlich erhabene weissliche Colonieen von verschiedener Grösse, vergleichbar mit einer Perlenschnur. Das Wachsthum breitet sich nicht über die ganze Fläche, sondern bleibt auf den Strich beschränkt. Das Condenswasser ist wenig getrübt mit spärlichem weisslichen Bodensatz. (Taf. II, Fig. 4.)

Bouillon (anaërob). Schon binnen 24 Stunden findet das Wachsthum statt. Die Bouillon ist wenig getrübt und am Boden des Röhrchens befindet sich ein weisslicher, mehliger Bodensatz.

Milch. Dieselbe bleibt unverändert.

Pathogenität. Die an Mäusen und an Meerschweinchen vorgenommenen Thierversuche lieferten ein negatives Resultat.

Bacillus Nr. 3.

Was das Aussehen dieses Bacillus in directen Präparaten (Taf. I, Fig. 1) betrifft, findet sich eine so zutreffende Beschreibung in Escherich's Werke (a. a. O.), dass ich derselben nichts hinzuzufügen habe.

Ich beschränke mich darauf, Escherich's Worte hier wiederzugeben.

„Diese Art gehört den sogenannten Köpfchenbakterien an, wobei ich dieselben mit diesem Namen lediglich ihrer Form wegen belege. Sie bestehen aus einem 4 bis 7 μ langen sehr schlanken Stiele, auf dem eine glänzende Spore aufsitzt; dieselbe ist in der Richtung des Fadens längs oval, erreicht in diesem Durchmesser bis zu $1 \cdot 5$ μ. Bei einzelnen sporentragenden Formen ist der Faden nicht mehr gerade, sondern schlängelt sich unter Verjüngung seines peripheren Endes. Dass das helle glänzende Köpfchen als Spore zu deuten ist, ergiebt sich aus dem Verhalten gegen Anilinfarben, indem es nach Behandlung mit concentrirter Schwefelsäure, sowie in heisser, concentrirter Farbstofflösung die Anilinfarben aufnimmt, während es bei der gewöhnlichen Färbemethode ungefärbt bleibt.

Ausser den eben beschriebenen Formen finden sich auch noch Fäden mit kleinerem, intensiv färbbaren Köpfchen (Stadium der Sporenbildung), und endlich solche, an denen das letztere fehlt."

Die Form des Bacillus lässt sich einigermaassen doch nicht viel von der Natur des Nährbodens beeinflussen.

In Bouillon haben wir die längsten sporentragenden Formen der Köpfchenbakterien (Taf. I, Fig. 7), auf den festen Nährböden die kürzesten, so dass manchmal der sporentragende Stiel kaum sichtbar ist. (Taf. I, Fig. 8.) Sporenfreie Fäden von verschiedener Länge, sogar ziemlich kurze Stäbchen, kommen in jedem Nährboden vor.

Die Färbbarkeit ist gut nach Gram. Eigenbewegung fehlt.

Gelatinestich. Das Wachsthum erfolgt $1^1/_2$ bis 3 ^{cm} unter der Oberfläche längs des ganzen Stiches, jedoch nicht so dicht, dass die einzelnen Colonieen nicht deutlich sichtbar wären. Letztere ähneln meistens einem zerzupften Wattebäuschchen mit verdichtetem Centrum, welches aber keine bestimmte Form hat. (Taf. II, Fig. 6.) Vergleicht man diese Colonieen mit solchen des Bacillus Nr. 1, so sieht man sofort, dass die langen und relativ dicken Fäden und der scharf begrenzte Kern der letzteren fehlen. Die Gasbildung in der Stichcultur tritt spärlich auf, deutlicher ist sie, wenn man die Gelatine in flüssigem Zustand impft und nachher erstarren lässt. (Taf. II, Fig. 8.)

Agarstich. Die Stichcultur entspricht dem umgekehrten Bilde eines jungen Tannenbaums mit wagerechten, jedoch unregelmässig angeordneten Aesten, dessen unverzweigter Stamm dem wachsthumlosen Stich (von der Oberfläche an gerechnet) entspricht. (Taf. II, Fig. 7.) In flüssig geimpftem und nachher erstarrtem Agar sieht man runde, kleine Colonieen, welche eine ziemlich starke Gasbildung veranlassen.

Agarstrich. Das Wachsthum erfolgt nur stellenweise längs des Striches; die Colonieen haben ein flaches bis halbkugeliges Relief und

sind von grauweisser Farbe. Auch in dieser Cultur kommt eine ziemlich bedeutende Gasentwickelung vor.

Bouilloncultur (anaërob). In den zwei ersten Tagen tritt eine Trübung ein, dann klärt sich die Bouillon und am Boden des Röhrchens bildet sich ein Satz, bestehend aus weisslichen Klumpen von schwach käsigem Geruch. Die Gasbildung, welche in dieser Kultur eine sehr deutliche ist, dauert nur etwa zwei Tage an.

Die Milch wird nicht zur Gerinnung gebracht und bleibt makroskopisch ganz unverändert. Auch dieser Mikroorganismus erwies sich für sämmtliche Laboratoriumsthiere als nicht pathogen.

Eine Uebersicht der untersuchten Fälle und ihrer Resultate wird in nachstehender Tabelle gegeben.

Es sei hier nur bemerkt, dass alle untersuchten Kinder vollständig gesund waren und aus der Frauenklinik der Universität Zürich stammten. Hrn. Prof. Dr. Wyder, Director der Frauenklinik spreche ich für die gütige Ueberlassung des klinischen Materiales an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aus.

Da, wie aus nachstehender Tabelle ersichtlich, nicht alle untersuchten Fälle ein positives Resultat lieferten, so bin ich nicht berechtigt, die Anaërobenflora im Säuglingsstuhl als eine constante zu betrachten. Es sei hier aber betont, wie ich im Anfang meiner Arbeit bereits bemerkt habe, dass die von mir angewandten Isolirungsmethoden keineswegs ideal waren und dass die gewöhnlichen Nährböden wahrscheinlich für viele Darmanaëroben ein schlechtes Substrat lieferten.

Es liegt auch nicht im Rahmen dieser Arbeit festzustellen, wie viele und welche anaërobe Arten im Säuglingsstuhle sich finden. Durch meine Untersuchungen ist doch der Nachweis geliefert, dass anaërobe Mikroorganismen in demselben vorkommen, weshalb ich mich berechtigt fühle, die Angaben der Autoren, welche den Kinderdarm als anaërobenfrei betrachteten, zu widerlegen, und der Ansicht bin, dass in fast allen, ja sogar in sämmtlichen physiologischen Fällen, Anaëroben existiren. Wenn sie sich unseren Untersuchungsmethoden entzogen haben, so ist dies der mangelhaften Methode zuzuschreiben. Ich weise noch auf die Thatsache hin, dass auch in Fällen (wie z. B. in dem vorletzt angegebenen), wo mikroskopisch fast mit Sicherheit anaërobe Bacillen zu sehen waren, eine Züchtung derselben misslang. Weitere Schwierigkeiten für die Züchtung der Anaëroben finden wir bei Säuglingen in der Entnahme des Materiales, weil bloss die unteren Theile des Stuhles zur Untersuchung gelangen.

Es wäre sehr wünschenswerth, dass die verschiedenen Darmabschnitte auf ihren Gehalt an Anaëroben geprüft würden, entweder bei Operationen oder unmittelbar nach dem Exitus.

Tabellarische Uebersicht.

Fälle	Alter	Art der Ernährung	Makroskopisches Aussehen	Reaction	Consistenz	Directer mikroskopischer Befund	Isolirte anaërobe Arten
1. Fall Sch.	11 Tage	Gemischte Nahrung	gelbblaue Farbe	saure	feste	Allerlei Arten von Stäbchen. Einige sind kurz, plump, mit abgerundeten Enden in regelloser Anordnung, andere sind schmale und in paralleler Anordnung. Einige lange, fadenförmige, daneben lange, dicke Stäbchen. Wenige Kokken. Wenige Bacillen, die das mikroskopische Aussehen der säureertragenden haben. Verschiedene nach Gram entfärbbare Stäbchen. (Taf. I, Fig. 3.)	Bacillus 1
2. Fall W.	10 Tage	Flaschenkind	gelbe Farbe mit wenigen weissen Flocken	„	„	Sehr pleumorphes Bild. Ziemlich viele sporentragende Bacillen; darunter sind auch solche, die den von mir isolirten Anaëroben gleich aussehen. Es hat auch viele lange, schmale Stäbchen und einige Kokken. Keine „säureertragenden" Bacillen. Verschiedene nach Gram entfärbbare Stäbchen.	Bacillus 1 „ 2
3. Fall Schr.	9 Tage	Gemischte Nahrung	eidottergelbe Farbe	„	weiche	Die „säureertragenden" Bacillen sind fast in Reincultur. Daneben sehr wenige dickere und einige nach Gram entfärbbare Stäbchen. Die säureertragenden sind auch gezüchtet wurden. (Taf. I, Fig. 2.)	
4. Fall H.	6 Tage	„	„	„	„	Einheitlichkeit der Flora. Fast alle nach Gram sich nicht entfärbbare, den „säureertragenden" ähnliche Stäbchen.	
5. Fall Fl.	18 Tage	Flaschenkind	weisslich-gelbe Farbe	„	feste	Die „säureertragenden" sind in mittlerer Zahl. Daneben einige ovale Gebilde mit einer Spore in der Mitte (Bac. 2?) und noch sehr schmale lange Stäbchen. Es sind noch kurze, plumpe Stäbchen in Diploanordnung und einige lange, dicke Bacillen (Bac. 1?). Nicht viele nach Gram sich entfärbbare Stäbchen und wenige Kokken.	Bacillus 1

(Fortsetzung.)

Fälle	Alter	Art der Ernährung	Makro-skopisches Aussehen	Reaction	Consistenz	Directer mikroskopischer Befund	Isolirte anaërobe Arten
6. Fall H.	9 Tage	Gemischte Nahrung	weisslich-gelbe Farbe (mit einigen grünen Flocken)	neutral	feste	Die Mehrzahl der Mikroorganismen besteht aus Kokken und aus sehr schmalen, kurzen Stäbchen. Es sind aber noch einige ovale, sporentragende Gebilde (Bac. 2?) und äusserst spärliche Köpfchenbakterien (Bac. 3?).	Bacillus 2
7. Fall Sch.	9 Tage	Brustkind	eidottergelbe Farbe	"	"	Einheitlichkeit der Flora, welche fast ausschliesslich aus „säureertragenden“ Bacillen besteht. Dieselben habe ich auch cultivirt. Daneben einige Bacillen mit kolbigen Anschwellungen und einige echte Köpfchenbakterien; dann noch einige in Ketten angeordnete und einige dem Bacillus 2 im Stadium der Sporenbildung ähnliche Bacillen. (Taf. I, Fig. 1.)	Bacillus 3 " 1
8. Fall S.	3 Wochen	"	"	saure	weiche	Die „säureertragenden“ Bacillen sind fast in Reincultur. Daneben befinden sich wenige sporentragende Bacillen, die dem Bacillus 2 ähnlich sind.	
9. Fall T.	9 Tage	"	dunkelgelbe Farbe	"	sehr weiche	Sehr pleumorphes Bild. An einigen Stellen des Gesichtsfeldes sieht man schmale, lange, fadenförmige Bacillen und Köpfchenbakterien. An anderen Stellen sind ovale Gebilde mit einer Spore in der Mitte (Bac. 2) und auch kräftige, zuweilen sporentragende Stäbchen (Bac. 1?). Die „säureertragenden“ in spärlicher Zahl.	Bacillus 2 " 3

Berücksichtigt man alle diese Factoren, so wird man die Procentzahl der gefundenen Anaëroben nicht als eine geringe schätzen und meine Ansicht, dass in sämmtlichen Fällen Anaëroben vorkommen, als nicht grundlos betrachten.

Dafür spricht auch der Umstand, dass Bacillus 1 in vier, Bacillus 2 in drei und Bacillus 3 in zwei von verschiedenen Säuglingen stammenden Stühlen gefunden wurden.

Ich möchte hier noch erwähnen, dass ich in letzter Zeit zwei Fälle von Kinderdiarrhöen auf Anaëroben untersucht habe und beide mit positivem Resultat.

Es sei hier nur hervorgehoben, dass, währenddem ich in physiologischen Fällen keine verflüssigende Anaërobenart isolirte, in den zwei erwähnten pathologischen Fällen die Gelatineverflüssigung von Seite eines anaëroben, welcher auch ein gasbildender war, eine sehr starke ist.

Wir sind entfernt, aus diesen wenigen Versuchen weite Schlüsse ziehen zu wollen. Die Frage der Darmanaëroben muss sowohl bei Kindern wie bei Erwachsenen, sowohl bei Menschen wie bei Thieren gründlich studirt werden, bevor allgemein geltende Gesetze von der Physiologie und der Pathologie aufgestellt werden. Das kann aber nicht Sache eines Einzelnen, noch weniger einer einzigen Arbeit sein.

Nach meinem Dafürhalten aber lässt sich der constante Befund von Bacterium lactis aerogenes und Bacterium coli commune in den Stühlen gesunder sowie kranker Individuen und insbesonders die grosse pathologische Bedeutung des Bacterium coli nach den bisherigen Untersuchungen dadurch erklären, dass diese Bacillen sehr leicht zu züchten sind und die übrigen überwuchern.

Escherich hat dem Bacterium lactis aerogenes allein die Rolle der Gasbildung im Säuglingsdarme zugeschrieben und behauptet, dass eine durch diesen Mikroorganismus bedingte Gährung „nur in den oberen Partieen des Dünndarmes stattfindet". Heut zu Tage ist eher anzunehmen, dass verschiedene, darunter auch Anaëroben-Darmbakterien diese Eigenschaft haben. Bis jetzt ist, dank der steten Ueberwucherung des Bacterium coli bezw. des Bacterium lactis aerogenes in Culturen aus dem Stuhl, diesem Mikroorganismus für manche Fälle eine zu grosse Bedeutung zugeschrieben worden.

Escherich hat noch viele Versuche mit sterilisirtem Caseïn und Fibrin gemacht, welche er mit Kinderkoth inficirte, und ist zu dem Resultat gekommen, dass sowohl das Caseïn wie das Fibrin durch die Bakterien keine Veränderung erleiden. Hervorzuheben ist, dass er alle diese Versuche nur bei Luftzutritt gemacht hat; er kommt zu folgendem Schluss: „Da die gemachten Versuche deutlich zeigten, dass die beiden chemischen

Stoffe sich auf keinerlei Weise verändern, so wird im Darmcanal selbst bei dem Mangel an freiem Sauerstoff die Vermehrung der Bakterien und ihre Einwirkung auf das Caseïn eine noch weit geringere sein." Wäre es nicht möglich, ja sogar wahrscheinlich, wenn er die Versuche bei Luftabschluss gemacht hätte, dass er dann Bakterien gefunden hätte, wie z. B. Bacillus Nr. 1, welche im Stande sind, das Caseïn stark zu verändern?

Ich möchte hier noch, was Bacillus Nr. 1 betrifft, auf die merkwürdige Thatsache hinweisen, dass, währenddem der Stuhl aller untersuchten Fälle geruchlos war, alle die Culturen des vier Mal isolirten Bacillus Nr. 1 einen sehr starken üblen Geruch hatten.

Ich fasse die Resultate meiner Untersuchungen folgendermaassen zusammen:

1. Im Stuhle gesunder, nur einige Tage alter Säuglinge kommen anaërobe Mikroorganismen vor.

2. Dieselben lassen sich nicht nur bei Flaschenkindern sondern auch bei Brustkindern nachweisen.

3. In sechs von neun untersuchten Fällen ist es mir gelungen, Arten von anaëroben sporentragenden Bacillen zu isoliren, welche alle gasbildend waren.

Zum Schlusse möchte ich Hrn. Docent Dr. Silberschmidt für die Ueberlassung des Themas und für seinen stets bereitwilligst ertheilten Rath herzlich danken.

Litteratur-Verzeichniss.

Bienstock, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1900. T. XIV. p. 750.

Eyckmann, Ueber Enzyme bei Bakterien und Schimmelpilzen. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1901. Bd. XXXIX. Nr. 22.

Escherich, *Die Darmbakterien des Säuglings.* Stuttgart 1886.

Flügge, *Die Mikroorganismen.* Leipzig 1896.

Gerstner, *Arbeiten aus dem bakteriol. Institut der technischen Hochschule zu Karlsruhe.* Bd. I. S. 152.

Hammerl, *Zeitschrift für Biologie.* 1897. Bd. XXXV.

Klein, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XVIII. S. 737. — Bd. XXII. S. 114 u. 576. — Bd. XXV. S. 278.

Kohlbrugge, Der Darm u. seine Bakterien. *Ebenda.* 1901. Bd. XXX. Nr. 1 u. 2.

Mannaberg, *Specielle Pathologie und Therapie* von Nothnagel. Bd. XVII.

Müller, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1885. S. 843.

Moro, *Jahrbuch für Kinderheilkunde.* 1900. Juliheft.

Rodella, Ueber die sogenannten säureliebenden Bacillen im Säuglingsstuhle. *Ebenda.* 1901. Bd. XXIX. Nr. 18.

Sanfelice, Untersuchungen über anaërobe Mikroorganismen. *Diese Zeitschrift.* Bd. XIV. S. 339.

Veillon et Zuber, Recherches sur quelques microbes strictement anaërobies et leur rôle en pathologie. *Arch. de méd. expér.* 1898. Nr. 4. Juillet.

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. I u. II.)

Tafel I.

Fig. 1. (Fall Scha., 9täg. Brustkind.) Directes Ausstrichpräparat. Gram'sche Färbung.

Fig. 2. (Fall Schr., 9 tägiges Flaschenkind.) Directes Ausstrichpräparat. Gram'sche Färbung.

Fig. 3. (Fall Sche., 11tägiges Brust- und Flaschenkind.) Directes Ausstrichpräparat. Färbung nach Gram.

Fig. 4. Ausstrichpräparat aus einer 15tägigen Milchcultur des Bacillus Nr. 1. Gram'sche Färbung.

Fig. 5. Ausstrichpräparat aus einer 5tägigen Bouilloncultur des Bacillus Nr. 2. Gram'sche Färbung.

Fig. 6. Ausstrichpräparat aus einer 5tägigen schrägen Agarcultur des Bacillus Nr. 2. Färbung mit Anilinwassergentianaviolett.

Fig. 7. Ausstrichpräparat aus einer 5tägigen Bouilloncultur des Bacillus Nr. 3. Färbung nach Gram.

Fig. 8. Ausstrichpräparat aus einer 3tägigen schrägen Agarcultur. Färbung nach Gram.

Vergrösserung sämmtlicher Figuren 450:1. — Koristka, $^1/_{12}$ Imm., Oc. 2 mit Camera gez. Hr. L. Schröter in Zürich hat die Zeichnungen ausgeführt.

Tafel II.

Fig. 1. 17tägige, flüssig geimpfte Gelatinereincultur des Bacillus Nr. 1.

Fig. 2. 6tägige Agarstichcultur des Bacillus Nr. 1.

Fig. 3. 4tägige Gelatinestichcultur des Bacillus Nr. 2.

Fig. 4. 3tägige Agarstrichcultur des Bacillus Nr. 2.

Fig. 5. 8tägige, flüssig geimpfte Gelatinereincultur des Bacillus Nr. 2.

Fig. 6. 7tägige Gelatinestichcultur des Bacillus Nr. 3.

Fig. 7. 5tägige Agarstichcultur des Bacillus Nr. 3.

Fig. 8. 10tägige, flüssig geimpfte Gelatinereincultur des Bacillus Nr. 3.

Die photographischen Aufnahmen Figg. 1, 2, 3, 4, 6, 8 wurden von Hrn. Prof. Barbieri gemacht. Figg. 5 und 7 verdanke ich Hrn. Prof. Karl Egli.

Die Bekämpfung der Rotzkrankheit des Pferdes.

Von

Prof. **V. Babes**
in Bukarest.

(Hierzu Taf. III u. IV.)

I. Das Malleïn.

Trotzdem seit mehr als 10 Jahren in verschiedenenen Ländern über Untersuchungen und Erfolgen berichtet wird, welche von specifischen Substanzen ausgehend die Diagnose, die Schutzimpfung und die Heilung des Rotzes bezwecken, gehen heutzutage die Meinungen über den Werth der verschiedenen Angaben und Methoden in dieser Richtung mehr als je aus einander, so dass eine kritische und experimentelle Beleuchtung der Frage wohl am Platze ist.

Als wir unter dem Eindrucke der Arbeiten von Hankin über giftige Producte beim Milzbrand, sowie jener von Roux und Chamberland über Immunität durch gelöste Substanzen auch den Rotzbacillus auf specifische chemische Substanzen hin untersuchten, indem namentlich der Chemiker unseres Institutes, Hr. Dr. A. Babes, über giftige Substanzen aus Rotzcultur berichtete, mittels welchen wir ermuthigende Resultate in der Behandlung des Rotzes erzielt hatten, und nachdem zu gleicher Zeit Helman einen Extract aus den Bacillen dargestellt hatte, mittels welchen er behauptete, gegen Rotz immunisiren zu können, schien es, als ob auch für diese Krankheit specifische Heilmittel gefunden wären. Namentlich konnten wir durch Präcipitiren in Alkohol oder Sättigung mit Neutralsalzen (Ammoniumsulfat) eine giftige Substanz gewinnen, welche die Reaction der Albumosen gab, und mittels welcher inficirte Meerschweinchen mit Erfolg behandelt werden konnten. Im Juli 1890 veröffentlichte Hankin unsere Resultate in der „London Medical Society".

Im Jahre 1891 beschäftigten sich Helman, Kalning, sowie A. Babes und Preusse mit Versuchen, eine dem Tuberculin analoge Substanz aus Rotzculturen darzustellen. Es wäre müssig, zu untersuchen, wem von diesen Forschern die Priorität in dieser Frage zukommt, indem allerdings die ersten Publicationen von russischen Forschern, namentlich von Helman herrühren, welcher behauptet, dass ein Auszug der Rotzbacillen für die Diagnose des Rotzes verwerthet werden kann, indem dieser Auszug bei rotzigen Pferden Temperaturerhöhung und local eine Geschwulst an der Impfstelle hervorbringe. Unsere eigenen Untersuchungen datiren übrigens auch aus dem Anfange des Jahres 1891, indem wir in einer Thèse des Thierarztes Motoc, dann in der „Deutschen medicin. Wochenschrift", sowie in den „Archives de médecine expérimentale" ebenfalls die tuberculinähnliche Wirkung dieser Auszüge aus Rotzculturen beschrieben hatten. Zugleich aber constatirten wir, dass dieselben Substanzen auch zur Heilung der Rotzkrankheit, namentlich bei langdauerndem und systematischem Gebrauche, beitragen können. Besonders bei einer Serie von Meerschweinchen konnten wir Heilung mittels der Impfung steigender Dosen erzielen, während die Controlthiere zu Grunde gingen. Ebenso behandelten Motoc und A. Babes mehrere rotzkranke Pferde mit steigenden Dosen ihres Präparates, welches sie „Morvin" nannten, indem nach 2 bis 3 Monate langer Behandlung alle Rotzsymptome, sowie die Empfindlichkeit gegen Malleïn dauernd verschwanden.

Ein Uebelstand dieser Behandlung war die grosse Giftigkeit unseres Präparates, welche durch eine veränderte Bereitungsweise nun eine sehr geringe geworden ist, indem die Toxine derart präparirt werden, dass dieselben wohl die fieberhafte und locale Reaction erzeugen, doch den grössten Theil ihrer Giftigkeit eingebüsst haben, in gewissem Sinne haben sich vielleicht eine Art Toxoide an Stelle eines Theiles desselben entwickelt. Allerdings tritt nunmehr die heilende Wirkung unseres Präparates mehr in den Hintergrund.

Diese Untersuchungen, welche sowohl Kalning als dem Mitarbeiter Helman's, Bertusch, das Leben kosteten, führten nun zu ausgebreiteter Verwendung des Morvins oder Malleïns zur Rotzdiagnose. Dieselbe Wirkung äussert auch das Präparat von Preusse, welches durch eine Infusion der sterilisirten Cultur in Glycerin erzeugt wird.

In Bezug der Bereitung der verschiedenen Malleïnarten können wir auf die Mittheilung von Kresling verweisen. Derselbe meint zwar, dass gewisse Malleïne bloss Temperatursteigerung, andere auch locale Reaction bedingen, was wohl nicht sicher ist, nachdem jene Forscher, welche die Localreaction nicht erwähnen, dieselbe Anfangs wahrscheinlich übersehen hatten. Ursprünglich betonte man namentlich, dass nur sehr virulente

Culturen ein gutes Malleïn liefern, während wir selbst später constatiren konnten, dass zwischen Virulenz, Giftigkeit und Reaction kein nothwendiger Zusammenhang besteht. In der That erzielen wir heute dieselbe Reaction wie früher mit kaum giftigen Producten. Wir wollen noch erwähnen, dass besonders Pearson in Berlin, Bromberg in Charkow, Roux in Paris, Foth in Berlin ähnliche Substanzen erzeugen, indem man füglich zwischen flüssigen Präparaten (Helman, Kalning, Pearson, Bromberg, Preusse, Roux-Nocard, Gutzeit, Preiss u. s. w.) und zwischen festen Präparaten (A. Babes, Foth, Kilborn und Schweinitz) unterscheiden kann. Alle diese Präparate gehen von einer möglichst virulenten Cultur aus, indem die Erhaltung dieser Virulenz mittels Durchleiten durch Kaninchen oder Katzen erreicht wird. Roux-Nocard verimpfen das Blut eines nach 2 Tagen verstorbenen Kaninchens in Reagensgläschen mit Kartoffeln, nach 3 Tagen bei 37° wird die Cultur mit etwas gekochten Wassers verdünnt, durch Leinewand filtrirt und in die Ohrvene des Kaninchens injicirt, um die Virulenz weiter zu erhalten. Das Malleïn wird aus Culturen in Glycerinbouillon erhalten; die Kolben bleiben einen Monat lang im Brütofen, werden dann sterilisirt und auf ein Zehntel eingeengt. Es wird also ebenso bereitet wie das Tuberculin. Dieses Präparat erhält sich gut, aber nach unseren Erfahrungen weniger gut als das pulverförmige Präparat. Auch fanden wir es für nöthig, die wirksame Dosis für jede Sendung von Neuem zu prüfen, indem dennoch gewisse Schwankungen der Wirkung der verschiedenen Sendungen nicht ausgeschlossen ist. Unser Malleïn (Morvin) wird derart bereitet, dass wir reichliche Culturen aus virulentem Material in einer Kartoffelpasta herstellen; die Culturen bleiben 5 bis 6 Wochen im Brütofen, kommen dann in ein Wasserbad von 68° während $3^1/_2$ Stunden, werden dann mit Wasser emulsionirt und darauf durch ein Witt'sches Filter filtrirt, das Filtrat in Alkohol präcipitirt, dann wieder filtrirt, der Filterniederschlag mit Alkohol und dann mit Aether gründlich gewaschen. Hierauf wird das Pulver unter der Luftpumpe rasch getrocknet. Dasselbe behält seine Wirkung mehr als 5 Jahre.

Das Malleïnum siccum Foth wird aus virulenten Culturen bereitet, welche durch Meerschweinchen durchgeleitet wurden, die nach 8 Tagen zu Grunde gingen. Nach 20tägiger Cultur im Brütofen wird dasselbe bei 80° auf ein Zehntel seines Volumens eingeengt, dann in 30 Volumen absoluten Alkohols präcipitirt, über Chlorcalcium im luftleeren Raum getrocknet, mit Wasser aufgenommen und von Neuem präcipitirt.

Nachdem wir unser Morvin 2 Jahre früher auf ähnliche Weise wie Foth bereitet haben, indem wir aber ein reineres und wirksameres Präparat erhielten, nachdem Foth durch Präcipitiren in absolutem Alkohol

verschiedene unwirksame Substanzen mitpräcipitirte, müssen wir von Neuem die Priorität und Ueberlegenheit des Morvins A. Babes betonen.

In der Regel entspricht eine Dose von 0·25 bis 0·30 Malleïn Roux-Nocard einer Dosis 0·02 bis 0·03 Morvin A. Babes und etwa 0·05 bis 0·06 Malleïn Foth.

Wir haben zahlreiche Pferde vergleichend mittels Morvin A. Babes, Malleïn Roux-Nocard und Malleïnum siccum Foth behandelt, und fanden, dass namentlich die angegebene Dosis des Roux-Nocard'schen Präparates genau dieselbe locale und allgemeine Wirkung hervorruft wie unser Präparat, während gewöhnlich die von Foth empfohlene Dosis seines Präparates eine bedeutend stärkere Temperatursteigerung hervorbringt als das unsere. Wir werden im Folgenden zahlreiche derartige Controluntersuchungen anführen und können schon jetzt betonen, dass die von Foth Anfangs angegebene Dosis unseren Erfahrungen nach zu hoch bemessen ist, indem Thiere, welche nicht rotzig sind und mit Nocard's Präparat nicht reagiren, mittels Malleïn Foth manchmal doch reagiren.

Um gleichmässige und vergleichbare Resultate zu erzielen, muss zunächst immer das entsprechende Präparat an rotzigen, nicht fiebernden Pferden erprobt werden, indem weder zu kleine, noch zu grosse Dosen verwendet werden dürfen. Wenn die Dosen zu klein sind, entsteht zwar Temperaturerhöhung bei rotzigen Pferden, welche aber nicht genug ausgesprochen ist, um sicher diagnostisch verwerthet werden zu können. Ferner bleiben dann öfter die Allgemein- und die Local-Reaction aus, welche immerhin zur Stellung der Diagnose nöthig sind. Anfangs, als wir mit einem sehr concentrirten Präparate arbeiteten, erreichten wir mit 0·01 eine charakteristische Temperatursteigerung von 2 bis 3°, während die Localreaction unbedeutend war. Eine Injection von etwa 0·02 bis 0·08 erzeugt ausserdem noch bedeutende Puls- und Respirations-Beschleunigung, Muskelcontractionen, Zittern und oft ein mehrere Tage andauerndes, bedeutendes Oedem an der Injectionsstelle. Unser jetzt verwendetes Morvin ist viel weniger giftig, so dass Meerschweinchen oder Pferde die 10- bis 20-fache Dosis ertragen, und giebt unser Präparat die charakteristische allgemeine und locale Reaction nach Injection von 0·02 bis 0·03. Ein 1- bis 2 jähriges Präparat unseres Morvins erzeugt dieselbe typische Reaction nach Injection von 0·04. Das bei uns in Anwendung gekommene Malleïn Foth hat denselben Effect wie unser Morvin bei Injection von 0·05, während 0·06 bis 0·08, welches der Anweisung Foth's entspricht, bedeutend stärkere Reaction verursachen. 0·25 ccm Malleïn Roux zeigt gewöhnlich eine etwas stärkere Reaction als unser Präparat, so dass wir im Durchschnitt sagen können, dass 0·25 ccm Malleïn Roux etwa 0·03 Morvin und 0·05 Malleïn Foth entspricht.

Es ist unseren Untersuchungen gemäss nicht zulässig, einen wesentlichen Unterschied in der Wirkung dieser drei Präparate anzunehmen, so dass die verschiedene Meinung der Autoren über die Wirkung des Malleïns nicht darauf beruhen kann, dass die verschiedenen Präparate verschieden wirken, wie dies wohl häufig angenommen wird, indem in unseren zahlreichen Controlversuchen nicht nur die Temperatursteigerung, sondern alle Nebenerscheinungen bei diesen drei Präparaten dieselben waren. Uebrigens gehen die Meinungen über die diagnostische Wirkung des Malleïns auch dort aus einander, wo ein und dasselbe Präparat zur Verwendung kam. Während z. B. Nocard die Verwendung des Malleïns zur Rotzdiagnose warm empfiehlt, wird dasselbe von Leblanc bekämpft, während andere französische Forscher eine exspectative Stellung einnehmen. In Deutschland sprechen sich Fröhner, Schütz, Siedamgrotzky, Engelen, Malkmus, Olt u. s. w. gegen die diagnostische Bedeutung des Malleïns aus, während Preusse, Johne, Kitt u. A. dasselbe warm befürworten. Auch in Russland, wo Semmer und Wladimiroff dasselbe empfehlen, sprechen sich namentlich die Militär-Thierärzte gegen dasselbe aus.

Neben sorgfältigen Untersuchungen bestehen aber so viele ganz ungenügende Angaben, dass namentlich diese die Frage über die Wirkung des Malleïns verwirren. Wir wollen deshalb hauptsächlich über die Resultate bewährter Forscher, welche über ein grosses Material verfügten, im Kurzen kritisch berichten.

Wenn wir in die Mittheilungen der Anhänger des Malleïns näher eingehen, können wir nicht umhin, die Kritiklosigkeit deren Mittheilungen zu betonen. Wenn dieselben ein Versagen der Methode beobachten, wird dasselbe ohne jede Controle auf die schlechte Qualität des Malleïns oder auf den Zustand der Pferde zurückgeführt. Die getödteten Pferde sind immer rotzig, indem das kleinste, selbst nicht entzündete, ganz unvirulente Knötchen in Lunge oder Leber selbstverständlich als Rotzknötchen proclamirt wird.

Oder aber handelt es sich um bloss 2 bis 3 bis 10 Pferde, deren Malleïnisirung offenbar nichts zur positiven Entscheidung der Frage beitragen kann.

Preusse, welcher als einer der Ersten Malleïn dargestellt hatte, vertheidigt dieses Präparat und seine Bedeutung, indem derselbe wohl mit Recht behauptet, dass viele in den Lungen gefundene, wenn auch kleinere Herde bei Thieren, welche typisch reagirt haben, Rotz bedeuten, doch ist es nicht richtig, dass solche Herde und Knoten deshalb als nicht rotzig angesehen werden, weil man versäumt hätte, dieselben daraufhin mit modernen Methoden zu untersuchen. Wir selbst haben uns in zahl-

reichen Fällen durch Culturversuche und Impfung davon überzeugt, dass die Knötchen, welche nach typischer Reaction gefunden werden, in der Mehrzahl der Fälle weder Bacillen noch lebendes Virus enthalten.

Ebenso wenig entsprechen die Angaben Preusse's über die typische Reaction unseren Erfahrungen. Nach Preusse ist jede steile Ansteigung der Temperatur um $1^1/_2$ Grad typisch. Dies ist offenbar falsch, indem bei vielen anderen Krankheiten, so bei Druse, dieser Anstieg die Regel bildet, unbedingt ist bei Rotz eine Temperaturerhöhung von wenigstens 2 Grad, und über 40 Grad, und 2 Tage andauernd zu verlangen. Auch die doppelte Culmination der Curve an einem Tage zeugt zwar für eine etwas dauerhaftere Reaction, doch ist dieselbe weder die Regel noch für die Rotzdiagnose genügend, während Andauern des Fiebers, welches nach Preusse nicht charakteristisch ist, nach unseren Erfahrungen eben für die typische Reaction unerlässlich ist. Ebenso unbegründet ist die Vernachlässigung der localen und allgemeinen Reaction von Seiten Preusse's.

Der bedeutendste Anhänger des Malleïns ist Nocard, der über zahlreiche Beobachtungen verfügt. In den in Frankreich gültigen, von Nocard herrührenden Instructionen wird behauptet, dass in den Fällen, in welchen die Pferde an Rotz erkrankt sind, stets in Folge der Einspritzung an der Injectionsstelle eine voluminöse und mehrere Tage andauernde Schwellung und Lymphstränge entstehen. Es sollen diese Symptome in keinem Falle fehlen. Allein an einer anderen Stelle wird betont, dass auch nicht rotzige Pferde an der Injectionsstelle eine geringe Schwellung, etwas Temperaturerhöhung und Empfindlichkeit zeigen, was aber rasch vorübergehen soll. Unsere zahlreichen Erfahrungen aber haben gezeigt, dass selbst bei rotzigen Pferden öfters nur eine ganz geringe kurz dauernde Schwellung an der Injectionsstelle vorhanden ist. Die von Nocard angegebenen Symptome sind also nicht constant, zumal dieser Forscher nicht angiebt, wie gross und wie lange dauernd die locale Reaction sein muss, damit diese Schwellung für Rotz charakteristisch sei.

Ebenso ungenügend sind Nocard's Angaben über die in Folge der Malleïninjection sich einstellende Temperatursteigerung. Dieser Autor begnügt sich mit der Behauptung, dass eine Temperatursteigerung von über $1 \cdot 5^0$, wenn dieselbe wenigstens zwei Tage lang andauert, für Rotz charakteristisch ist. Unsere bei Tausenden von Pferden gesammelten Erfahrungen lehren, dass in den meisten Fällen, in welchen die Temperatur 39^0 nicht überstieg, nicht von Rotz die Rede sein konnte. Wenn z. B. ein Pferd eine Temperatur von $37 \cdot 3$ bis $37 \cdot 4^0$ aufweist und nach der Injection dieselbe nicht einmal bis zu 39^0 aufsteigt, so kann nicht behauptet werden, dass das Thier rotzkrank sei. Auch Temperatursteigerungen über 39^0, wenn dieselben 40^0 nicht erreichen und nicht 2^0 betragen,

sind nach unseren Erfahrungen nicht für Rotz charakteristisch. Noch weniger charakteristisch sind die von einigen deutschen Verfassern angegebenen Temperatursteigerungen, indem dieselben bei einem Anstieg von 1° Rotz diagnosticiren, was aber durchaus unzureichend ist. Schon diese Thatsache lehrt, wie wenig gründlich bis heute verfahren wurde.

Nocard behauptet ausserdem, dass, wie typisch auch die thermische Reaction ausfallen möge, der Mangel der organischen Reaction dazu hinreiche, um das Thier bloss als rotzverdächtig anzusehen — was aber mit seiner früheren Behauptung, dass in den Fällen von Rotz eine organische Reaction stets vorhanden sein müsse, in Widerspruch steht. Nocard müsste seiner Behauptung zu Folge, dass bei Rotz immer bedeutende Localreaction vorhanden sei, sagen, dass bei typischer thermischer Reaction und bei Mangel an localer Reaction Rotz ausgeschlossen sei. In dieser Ideenfolge gelangt Nocard zu dem heute von den meisten Forschern bekämpften Schluss: „Un animal qui ne réagit pas à une injection de malléine n'est pas morveux quelles que soit l'apparence des symptômes observés.“

Die Unzulänglichkeit der Nocard'schen Methode verräth sich mehr durch das, was er nicht aussagt, als durch das, was von ihm behauptet wird, was mit der Thatsache zusammenfällt, dass er sich nicht durch zahlreiche Controlversuche von dem Werth des Malleïns zu überzeugen suchte. So haben wir z. B. in zahlreichen Fällen beobachtet, dass, wenn ein Pferd in einem Zeitraum von 1 bis 2 Wochen nach einander 2 Mal mit ein und demselben Malleïn injicirt wird, es sich ereignen kann, dass das Thier das erste Mal reagirt und das zweite Mal nicht — eine Thatsache, die, wie es scheint, Nocard ganz und gar unbekannt ist oder die von ihm nicht beachtet wird. Nocard behauptet, dass die rotzverdächtigen Pferde mit Malleïn zu injiciren sind; reagiren sie nicht, so sind sie von dem Verdachte des Rotzes frei; jene Pferde, welche reagiren, sollen 1 bis 2 Monate unter Observanz gehalten und nachher von Neuem malleïnisirt werden; tritt dann keine Reaction ein, so sind die Thiere als geheilt zu betrachten. Thatsächlich veröffentlicht Nocard eine Reihe von Fällen, in welchen diejenigen Thiere, die nach 1 bis 2 Monaten nach der zweiten Malleïnisirung reactionslos waren, es auch später nach einer dritten und vierten Malleïninjection blieben. Dem gegenüber können wir, auf unsere vielfachen Versuche gestützt, die wir selbst mit dem Nocard'schen Präparat unternahmen, behaupten, dass sich dieser Forscher täuscht. Zunächst müssen wir bemerken, dass, wenn in einem Zeitraum von 8 bis 14 Tagen zwei Mal injicirt wird, das eine Mal mit und das andere Mal ohne Reaction, es unzulässig ist, anzunehmen, dass gerade in dieser kurzen Zwischenzeit von 8 Tagen das Pferd an Rotz erkrankt oder von

demselben geheilt worden wäre. Nocard räth in manchen Publicationen davon ab, kurze Zeit nach der Malleïnisirung ein zweites Mal zu impfen, indem er behauptet, dass die erste Reaction die zweite beeinflussen würde, was wir aber in Tausenden von Fällen nicht beobachten konnten. Jedenfalls können die contradictorischen Resultate der beiden Impfungen nicht darauf zurückgeführt werden, indem die erste Impfung das Thier wohl derart beeinflussen könnte, dass es zum zweiten Mal nicht reagirt, nachdem es zuerst reagirt hatte, oder auch umgekehrt, nicht aber ein Mal so und das andere Mal anders. In der That haben unsere Thiere in mehreren Hundert Fällen das erste Mal reagirt und das zweite Mal nicht und etwa ebenso viele gerade umgekehrt. Zweitens verfügen wir über ein zahlreiches Material, aus welchem ersichtlich ist, dass viele Pferde, die zu reagiren aufgehört hatten, nach neuerlichen Injectionen von Neuem typisch reagirten; es könnte dies in vielen Fällen als neue Infection angesehen werden, während andererseits dort, wo sich diese Erscheinung wiederholt, angenommen werden muss, dass das Aufhören der Reaction nicht auch das Aufhören des Rotzes bedeute. Thatsächlich ereignete es sich auch mehrere Male, dass, nachdem die Pferde nicht mehr reagirten, dieselben nach kurzer Zeit doch an Rotz zu Grunde gingen. Wir können dem zu Folge, auf unsere Untersuchungen gestützt, das Verfahren und die Schlussfolgerungen Nocard's nicht gutheissen und müssen nach neuen Kriterien für die Reaction und nach einem anderen Anwendungsmodus forschen.

Der wesentliche Fehler sowohl Preusse's als Johne's ist die Annahme, dass die Malleïnreaction immer auf lebende Rotzbacillen im Organismus hinweisen sollen, was eben absolut nicht bewiesen ist. Im Gegentheil sind bei der Mehrzahl der in Folge typischer Reaction getödteten Pferde lebende Bacillen durch keinerlei Verfahren, selbst von ausgezeichneten Bakteriologen, welche alles Interesse hatten, solche zu finden, nicht gefunden worden, und ist es nicht gestattet, diese höchst wichtige Thatsache einfach zu ignoriren oder mit der gänzlich unerwiesenen Behauptung abzufertigen, dass doch wohl irgend wo im Organismus dieser Pferde versteckte Bacillenherde vorhanden gewesen sein müssten.

Für den Werth des Malleïns spricht sich Schindelka aus, indem derselbe verschiedene Lungenknötchen als rotzig deutet und indem derselbe aber allerdings zugiebt, manchmal bei anderen Krankheiten, namentlich bei Emphysem, seine als typisch bezeichnete Reaction gefunden zu haben.

Die für die russische Armee gültigen Instructionen verlangen eine Temperatursteigerung von 2°, welche sich wenigstens 36 Stunden lang erhält, bei Fehlen verdächtiger Symptome eine zweite Injection nach

14 Tagen und bei positivem Ausfall Tödtung der Pferde. Der localen und allgemeinen Reaction wird keine grössere Bedeutung beigelegt. Wir werden sehen, dass sich diese Instructionen unseren Anschauungen ziemlich nähern, obwohl dieselben uns ebenfalls zu schematisch und schwer ausführbar erscheinen, wie dies unsere späteren Ausführungen erweisen sollen.

Foth, welcher, wohl ohne Kenntniss von unserem Präparate zu besitzen, ebenfalls ein trockenes Malleïn herstellt und benutzt, von welchem etwa 0·06 bis 0·1 grm als Einzeldose empfohlen wird, ist überzeugter Anhänger des Malleïns.

Derselbe behauptet:

1. dass jedes rotzige Pferd reagirt, was allerdings nicht richtig ist, und

2. dass nicht rotzige Pferde nicht reagiren.

3. Ferner hält derselbe eine Reaction von über 2° als sicheres Zeichen von Rotz. Auch hier täuscht sich dieser Autor, indem dessen Malleïn in den von uns verwendeten Proben in der angegebenen Dose stärker wirkt als unser Morvin oder Roux-Nocard's Malleïn, so dass eine Steigerung der Temperatur auf über 2° einer solchen unter 2° mittels unserer Präparate entspricht, welche Temperatur nach unserer Erfahrung nicht unbedingt auf Rotz hinweist.

4. In Bezug der unsicheren Reaction sind wir mit dem Autor einverstanden.

5. Atypische Ansteigungen sind nach Foth nicht als Zeichen für Rotz zu bezeichnen, was nicht mit unseren reichlichen und controlirten Erfahrungen übereinstimmt, indem oft, namentlich bei manifest rotzigen Pferden, atypische Reaction auftritt und dieselbe oft mit typischer abwechselt. Allerdings besteht atypische Reaction oft bei anderen Krankheiten, namentlich aber bei Druse.

6. Foth zieht diese atypischen Reactionen nur dann in Betracht, wenn es sich um rotzkranke oder verdächtige Pferde handelt, was allerdings als praktisch nützlich, doch wissenschaftlich unhaltbar bezeichnet werden darf.

7. Bei geringeren Dosen des Mittels sind geringere Temperatursteigerungen zu beobachten, welche aber weniger charakteristisch sind. Dies können wir auch bestätigen, indem die charakteristischen Reactionen durch ein Präparat erzielt werden, bei welchen die Temperatur rotziger Pferde sich über 2° über die Initialtemperatur erhebt, doch nicht excessive Temperatur erzeugt, indem mit einem zu starken Präparat etwa 0·08 bis 0·1 manchmal auch bei nicht rotzigen Pferden eine Temperatursteigerung auftritt, welche mit Rotz verwechselt werden kann.

8. Foth zieht bei der Reaction weder die localen noch die allgemeinen Erscheinungen in Betracht. Wenn wir auch die Nocard'sche Charakteristik dieser Reactionen für ungenau und in ihrer Bedeutung überschätzt betrachten, können wir nach unserer reichlichen Erfahrung auch das Uebersehen derselben nicht billigen, indem in der That bei rotzigen Pferden eine bedeutende Local- und Allgemeinreaction die Regel bildet.

Das von Foth empfohlene Verfahren ist offenbar nicht zweckmässig, indem derselbe die Tödtung aller über 2° reagirenden Pferde verlangt, was durchaus nicht nöthig ist und ungeheure Opfer auflegt, welche sich für die rumänische Armee auf über 1 000 000 Frcs. beziffern würden. Unzweifelhaft ist Foth von dieser Forderung zurückgekommen.

Diesen sogenannten positiven Resultaten gegenüber werden immer von Neuem negative Resultate publicirt. Es genügte namentlich, näher zuzusehen und die Injectionen zu wiederholen, um sich zu überzeugen, dass, je mehr die Reactionen controlirt werden, das Resultat um so unsicherer wird. Unsere eigenen Untersuchungen, sowie jene von Tommilin und Happich zeigten z. B., dass bei Wiederholung der Impfungen die Pferde ein Mal reagiren, das andere Mal nicht oder atypisch. Diese Autoren gingen offenbar nicht so vor wie viele Anhänger des Mallein, welche die in Folge der Reaction getödteten Thiere sehr sorgfältig untersuchen, und wenn sie dann einige hirsekorngrosse, weissliche, verkalkte, derbe, nicht virulente Knötchen in den Lungen finden, die Pferde als rotzig erklären. Der Referent bemerkte zu der Mittheilung Tommilin's und Happich's, dass die Untersuchungen willkürlich und ungenügend seien, indem der Rotz heilen könne. Aber diese Erklärung ist doch nicht anwendbar, wenn in Zwischenräumen von 8 Tagen das eine Pferd einmal reagirt und das zweite Mal nicht oder umgekehrt!

Sobald sich die Autoren vom Schema Nocard's oder Anderer, welche aber jede ernste Controle ausschliessen, entfernen, kommen sie zu negativen Schlüssen. Das System Nocard's ist nämlich folgendes: Erste Injection: die Pferde reagiren oder reagiren nicht. Die reagirenden ohne klinische Symptome bleiben 2 Monate in Beobachtung, hiernach wieder eine Injection: einige reagiren, andere nicht; die reagirenden bleiben weitere 2 Monate, die nicht reagirenden sind geheilt, und so weiter, so ist jede Controle ausgeschlossen, man brauchte aber bloss ein solches reagirendes oder nicht reagirendes Pferd nach 8 Tagen wieder zu impfen, und das ganze schöne System wäre umgestürzt, wenn das Pferd, das früher reagirte, nicht mehr reagirte oder umgekehrt. Aber Nocard hat auch Thiere, die reagirten, getödtet und fand hierbei immer in Lunge oder Leber wenigstens einige miliare Knötchen, ergo waren die Thiere rotzig. Dass diese Knötchen gewöhnlich gänzlich indolent und nicht infectiös waren, kümmert

Nocard nicht weiter, auch stört es diesen Forscher keineswegs, dass Thiere derselben Gruppe, welche nicht reagirten, dieselben Knötchen aufweisen, dieselben sind aber geheilt und enthalten keine Bacillen mehr. Aber auch bei den reagirenden werden keine Bacillen gefunden! Da würde aber nicht genügend gezüchtet, behauptet Nocard. Auf diese Weise täuschen sich Nocard und seine Anhänger allerdings nie.

Schütz spricht sich gegen den Werth der Malleïnimpfungen aus, indem er angiebt, oft bei nicht rotzigen Pferden in Folge der Injection Reaction und bei rotzigen Mangel der Reaction beobachtet zu haben, und indem Schütz die in Lunge und Leber der in Folge typischer Reaction getödteten Pferde gefundenen Knötchen nicht als Rotzknötchen anerkennt, sondern dieselben zum grössten Theil auf den Reiz von Parasiten, Würmern oder deren Eiern zurückführt. Der Autor, sowie Olt gehen nämlich von der Voraussetzung aus, dass, wenn diese Knötchen rotziger Natur wären, auch rotzige Veränderungen der Respirationsschleimhaut vorhanden sein müssten. Allerdings waren diese Knötchen in unseren Versuchen in der Regel nicht infectiös.

Die Meinung Schütz' ist aber dennoch noch weniger gestützt als jene Nocard's. Die fraglichen Knötchen wurden gewöhnlich nicht auf ihre Virulenz hin untersucht, Parasiten werden in denselben wohl öfters gefunden, öfters aber auch nicht und überhaupt existiren bloss histologische Untersuchungen, welche über das eigentliche Wesen dieser für die Malleïnfrage so wichtigen Knötchen durchaus nicht immer die richtigen Aufschlüsse geben. In der That, wenn diese Knötchen in der Regel rotziger Natur sind, muss sich die Bekämpfung des Rotzes ganz anders gestalten als wenn dieselben in der Regel nicht Rotz bedeuten.

Es ist besonders wichtig, zu untersuchen, ob diese Knötchen aus dem Kreislauf stammen oder ob dieselben von bronchialen Veränderungen herrühren, indem im letzteren Falle angenommen werden darf, dass dieselben einer Infection der Luftwege entsprechen, während in ersterem Falle denselben ein secundärer, metastatischer Charakter zukommen dürfte.

Es ist fraglich, ob die Knötchen, welche nach Nocard Rotz bedeuten, von Nocard, Preusse und Johne mit Recht als primäre Rotzaffectionen betrachtet werden dürfen. In Analogie mit anderen Infectionskrankheiten müsste man doch annehmen, dass die ersten Manifestationen entweder an der Invasionsstelle bestehen oder sich in Allgemeinerscheinungen äussern, während die späteren Localisationen in einem fernen Organ doch als secundäre angesprochen werden sollen, ebenso wie die metastatischen Abscesse in den Lungen in Folge einer Wundinfection doch nicht primäre, sondern secundäre Manifestationen sind.

Allerdings scheint es sich hier um ein Missverständniss zu handeln, indem Johne auch von kleinen peribronchitischen und bronchitischen Herden spricht, welche durch Eindringen des Bacillus durch die Luftwege zu Stande kommen sollen, während die Experimente Nocard's sich auf Knötchen beziehen, welche durch Invasion vom Darme aus zu Stande kommen sollen.

Was unsere eigenen Untersuchungen betrifft, können wir uns auf ein sehr reiches Material stützen, indem die Regierung eine Commission behufs Anwendung und Erforschung des Malleïns unter meinem Präsidium einsetzte, und an welchem die Herren Thierärzte Prof. Locusteanu, Popescu, Prof. G. Persu, Furtuna, Prof. Gavrilescu, Prof. P. Riegler und der Chemiker Dr. A. Babes theilnahmen.

Diese Commission leitete die Malleïnisirung bei etwa 7000 Pferden und studirte genau die Resultate derselben. Vor Allem wurde festgestellt, was das Malleïn für die Diagnose des Rotzes zu leisten im Stande ist. In einem Artikel, welchen wir im August 1894[1] veröffentlichten, theilten wir die Resultate unserer Untersuchungen mit, aus welchen hervorgeht, dass die Rotzkrankheit in Rumänien sehr verbreitet ist, und dass namentlich ausser den ausgesprochenen Rotzfällen in zahlreichen Fällen ein versteckter oder latenter Rotz angenommen werden muss, indem etwa 30 bis 50 Procent der Pferdebestände, in welchen ausgesprochene Rotzfälle vorkommen, an dieser versteckten Form erkrankt sind. Bevor wir aber näher in die Untersuchung dieser Formen eingehen, müssen wir der zahlreichen Versuche Erwähnung thun, welche zur genauen Feststellung der charakteristischen Reaction führen.

II. Die Malleïnreaction.

Nachdem wir zunächst die Identität der verschiedenen Präparate geprüft hatten, konnten wir feststellen, dass Pferde mit klinischen Rotzsymptomen, aber bei gutem Kräftezustand und ohne Fieber in Folge der Malleïninjection folgendermaassen reagiren: Nach wenigen Stunden entsteht Appetitlosigkeit, Abgeschlagenheit, öfters Muskelzuckungen, ferner erscheint an der Impfstelle eine schmerzliche, ödematöse Schwellung, welche nächsten Tages zunimmt und mehrere Tage andauert. Zugleich entsteht etwa 6 Stunden nach der Injection schnell ansteigende Temperaturerhöhung von wenigstens 2° und mindestens bis 40° C., welche Temperatur sich mehrere Stunden lang auf dieser Höhe erhält, nach 24 Stunden aber absinkt, um sich aber nächsten Tages wieder von Neuem über die Initial-

[1] *Semaine médicale.* Paris 1894.

temperatur zu erheben. Zugleich mit dieser thermischen Reaction entwickelt sich, wie erwähnt, gewöhnlich eine handtellergrosse oder grössere ödematöse Schwellung, welche 2 Tage und auch länger andauert. Wir bezeichnen die grosse locale Reaction über handtellergross und über 2 Tage andauernd mit ⊙, die mittlere mit ○, und die kleinere als ein Handteller und weniger als 2 Tage dauernde mit einem Punkte. Während dieser Erscheinungen ist das Pferd niedergeschlagen und appetitlos und zeigt häufig Muskelzuckungen. Etwa 48 Stunden nach der Impfung ist das Pferd in den Normalzustand zurückgekehrt. Diese Erscheinungen bezeichne ich als typische Reaction (*), wobei ich aber schon hierbei bemerken will, dass nicht selten manifest-rotzige Pferde nicht diese typische Reaction, sondern andere Reactionsformen zeigen können, was aber vom praktischen Standpunkte keine Wichtigkeit besitzt, nachdem es sich eben um klinisch charakteristischen Rotz handelt. Oft erscheint die typische Reaction erst nach einer zweiten Malleïninjection. Während eine Tuberculininjection den Organismus gegenüber einer zweiten Injection beeinflusst, ist dies beim Malleïn nicht der Fall, indem rotzige Thiere, welche das erste Mal typisch reagiren, bei einer zweiten Injection nach etwa 8 bis 14 Tagen in den allermeisten Fällen dieselbe typische Reaction erkennen lassen. Allerdings kommt es nicht gerade selten vor, dass ein rotziges Pferd das erste Mal typisch reagirt und das zweite Mal nicht oder umgekehrt, so dass wir in Folge dessen gezwungen waren, eine charakteristische Reaction nur dann anzunehmen, wenn zwei nach einander folgende Injectionen typisch verlaufen. Noch eine andere bedeutende Schwierigkeit in der Interpretation der Reaction ist die, dass viele rotzige Pferde überhaupt nicht reagiren, namentlich jene, welche Fieber aufweisen, sowie andere, welche sich in einem Stadium bedeutender Kachexie befinden. Da bei diesen Pferden die Malleïnisirung nicht nöthig ist, um den Rotz zu diagnosticiren, hat die Erscheinung wohl keine praktische Bedeutung, wohl aber musste dieselbe vom theoretischen Standpunkte näher untersucht werden.

Zunächst konnten wir beobachten, dass viele rotzige Pferde atypisch reagiren, oder dass typische Reactionen mit atypischen abwechseln. Vorerst müssen wir zwischen grosser typischer Reaction und der sogenannten kleinen typischen Reaction (†) unterscheiden, welche von vielen ausländischen Forschern als für Rotz charakteristisch betrachtet wird, während wir diese Reaction öfters auch bei gesunden Pferden constatiren konnten. Dieselbe unterscheidet sich von der typischen Reaction dadurch, dass die Temperatur um weniger als 2° über die Initialtemperatur und nicht bis auf 40° steigt, indem auch die locale Reaction und die allgemeinen Erscheinungen weniger ausgesprochen sind. Unter grosser

atypischer Reaction = ? verstehen wir eine bedeutende Temperaturerhöhung, welche wie bei typischem Rotz ansteigt, über 2° und bis über 40°, ohne sich aber auf der Höhe zu erhalten; dieselbe fällt nach einigen Stunden ab, um sich nicht wieder zu erheben. Diese Reaction wird häufig bei rotzigen Thieren gefunden, doch häufig auch bei nicht rotzigen, mit anderen Krankheiten behafteten (Druse, Emphysem, Pneumonie). Unter kleiner atypischer Reaction = (?) verstehen wir eine ähnliche Curve, welche aber 40° nicht erreicht. Beide diese Erscheinungen können mit bedeutender und andauernder oder mit geringer, vorübergehender Localreaction einhergehen. In nicht seltenen Fällen entsteht bei rotzigen Thieren wenige Stunden nach der Injection eine bedeutende Hypothermie, von welcher aus die Temperatur nur mässig über die Normaltemperatur ansteigt. Häufiger und für Rotz charakteristisch ist jene Reaction, bei welcher die Temperatur ebenso ansteigt wie bei der typischen, indem dieselbe aber nicht am selben Tage zur Norm oder in die Nähe der Norm zurückkehrt, um nächsten Tages wieder anzusteigen, sondern sich auf der Höhe erhält und nächsten Tages sich selbst bis über die Maximaltemperatur des ersten Tages erhebt (ascendirender Typus).

Das Verhalten manifest-rotziger Thiere gegenüber dem Malleïn.

1. Rotzkranke Thiere mit bloss einer Injection oder mit wenigen Injectionen.

Unter 31 rotzkranken Pferden hatten 12 normale Temperatur und von diesen reagirten 5 typisch, 3 atypisch, 2 reagirten nicht, zeigten aber geringe Hypothermie nach der Impfung, und 2 Pferde reagirten bei den mehrfachen Infectionen bald typisch, bald atypisch. Bei drei anderen rotzigen Pferden, welche jahrelang malleïnisirt wurden, ging die Anfangs tpyische Reaction nach Monaten in eine atypische über, indem man constatiren konnte, dass bei jeder folgenden Impfung die Reaction geringer wurde, der Typus in grosse Atypie und dann in kleine Atypie und endlich in Reactionslosigkeit überging. Der Mangel an Reaction erhielt sich aber nicht in beiden Fällen, indem in einem Falle das Pferd von Neuem zu reagiren begann.

Rotzige Pferde mit ausgesprochenem Fieber reagiren gewöhnlich nicht typisch, während die Mehrzahl der manifest-rotzigen Pferde subfebrile Temperatur aufweisen und in der Regel auch gegen Malleïninjectionen sehr empfindlich sind, indem z. B. Pferde mit einer Initialtemperatur zwischen 38·2 bis 38·8, nach der Injection eine Temperatursteigerung über 40° mit den übrigen Charakteren einer typischen Reaction aufweisen. Wir wollen hier nicht von jenen Pferden sprechen, bei welchen im Verlauf der

Malleïnisirung der Rotz zum Vorschein kam und welche ganz eigenthümliche Verhältnisse darbieten. Unter 66 rotzigen Pferden mit subfebriler Temperatur hatten 41 eine mittlere Temperatur über 38·2°, gewöhnlich nicht über 38·5°, und von diesen zeigten 25 typische Reaction, während 11 auf Malleïn nicht reagirten und 5 eine kleine typische Reaction zeigten. Die nicht fiebernden rotzigen Pferde zeigten in 9 Fällen typische Reaction, in 3 Fällen kleine typische Reaction. In diesen Fällen fand sich gewöhnlich zugleich eine bedeutende, über handtellergrosse, locale Schwellung, in 3 Fällen aber war dieselbe klein und schnell vorübergehend. In 7 Fällen keine Reaction.

2. Rotzfälle ohne Malleïnreaction.

In einem dieser Fälle war bei den zwei ersten Malleïnisirungen Fieber, keine Reaction, bei der 3. kein Fieber und kleine typische Reaction und bei der 4., 5. und 6. wieder Fieber ohne Reaction vorhanden. Die Fälle ohne Fieber und ohne Reaction sind natürlich von höchstem Interesse. Bei der Section fanden sich Geschwüre an der Nasenscheidenwand und Drüsengeschwulst mit Hämorrhagien, in der Lunge miliare und grosse erweichte Knoten. Die Culturversuche waren positiv. In diesem Falle wurde eine kleinere Dosis Malleïn eingespritzt als gewöhnlich, 0·02 statt 0·03. Im zweiten Falle wurde dieselbe kleine Dosis eingespritzt; es bestand zwar kein continuirliches Fieber vor der Injection, doch konnten öfters vorübergehende Fieberbewegungen constatirt werden. In einem dritten Falle wurden zwei Injectionen gemacht, nach der ersten atypische, nach der zweiten keine Reaction mit geringer localer Schwellung. Das Pferd ist sehr herabgekommen und nimmt keine Nahrung zu sich. Bei der Section charakteristische Geschwüre an der Nasenschleimhaut, Drüsengeschwülste und verkäste Knoten und pneumonische Herde. Ein viertes Pferd in Marasmus ohne Fieber und ohne Thermoreaction, keine locale Schwellung; Sectionsbefund: Rotzgeschwüre an der Nasenschleimhaut, hämorrhagische Drüsenschwellung, zahllose miliare Lungenknötchen.

Fünfter Fall: Subfebrile Temperatur, Marasmus, weder allgemeine, noch locale Reaction. Section: Nasengeschwüre. Zahlreiche verkäste Lungenknötchen, Hepatisation und hämorrhagischer Infarct der Lunge sowie Drüsenschwellung.

Sechster Fall: Das Pferd ist ziemlich geschwächt, fieberlos, wurde 8 Mal während 4 Monate malleïnisirt, ohne auch nur einmal zu reagiren, wird als rotzig erschossen. Sectionbefund: Zahlreiche Geschwüre und Knötchen an der Nasenscheidewand, ebenso an den Muscheln. In der rechten Lunge zahlreiche miliare käsige oder vereiterte Lungenknoten, Drüsenschwellungen mit miliaren Leberknoten.

Siebenter Fall: Ein schwaches, fieberloses Pferd wurde während anderthalb Monate 3 Mal malleïnisirt, das erste ohne, das zweite Mal mit kleiner, das dritte Mal ohne allgemeiner oder localer Reaction. Sectionsbefund: An der Nasenschleimhaut zahlreiche Rotzgeschwüre, zahlreiche kleine Rotzknoten.

Ohne hier in die verschiedenen Discussionen über die Bedeutung der Reaction einzugehen, wollen wir schon hier, also bei der Feststellung der Thatsache, dass rotzige Thiere auf Maleïn manchmal nicht reagiren, versuchen, den Mangel der Reaction in schlechten Fällen bei etwa 10 Proc. der Fälle zu erklären. Es wurden unter der Leitung des Hrn. Prof. Paul Riegler, Abtheilungschef des bakteriologischen Institutes, in der hiesigen thierärztlichen Hochschule Versuche angestellt, um den Grund der Reactionslosigkeit mancher rotzigen Thiere zu eruiren. Zunächst konnte man annehmen, dass vielleicht eine Bakterienassociation die Auslösung der Reaction verhindert, doch gaben die eingeleiteten Versuche ein negatives Resultat. Zunächst konnten wir nachweisen, dass verschiedene Bakterienproducte, so das Tuberculin in grösseren Dosen, bei rotzigen Thieren öfters eine Reaction auslöst, welche der Malleïnreaction ähnlich oder selbst identisch sein kann. Aber auch verschiedene andere Bakterienproteïne, sowie jene des Pyocyaneus oder verschiedene Bakteriengemische erzeugen bei rotzigen Thieren eine ähnliche allgemeine oder locale Reaction, indem in manchen meiner Fälle der versteckte Rotz in Folge von Injection mittels grösserer Mengen derartiger Substanzen manifest wurde, was übrigens auch schon Bouley bekannt war, welcher durch Injection putrider Flüssigkeit den versteckten Rotz zum Vorschein brachte.

Es wurden nun bei Pferden mit typischer Reaction abgetödtete oder auch lebende ältere Culturen von Pyocyaneus (etwa 10 ^{ccm}) eingespritzt und nach einigen Stunden diesen Pferde von Neuem Malleïn injicirt, worauf typische Reaction eintrat. In einem zweiten Falle wurde das Pferd, welches fünf Mal reagirt hatte, mit einer bei 65^{0} sterilisirten Pyocyaneuscultur, die mit der gebräuchlichen Dosis Malleïn vermischt war, injicirt, worauf typische Malleïnreaction und bedeutendes locales Oedem eintrat. Im dritten Falle wurde das gleiche Experiment wiederholt, mit ähnlichem Resultat. Auch das vierte Experiment mit lebender Cultur lieferte dasselbe Resultat, ebenso die Experimente mit einem Gemisch von lebenden oder getödteten Culturen von Pyocyaneus, Staphylococcus und Coli communis. Im achten Versuch wurden bloss 25 ^{ccm} Pyocyaneuscultur einem Pferde injicirt, welches früher mehrere Male typisch reagirt hatte, worauf nächsten Tages die Temperatur über 40^{0} stieg und sich 3 Tage lang über 39^{0} erhielt — ein Verhalten, welches der Malleïnreaction nicht entspricht. Nach dem Absinken der Temperatur wurde wieder Malleïn injicirt, worauf typische Reaction eintrat. Auch durch Eindringen von Eiterkokken in künstlich

erzeugter Wunde unter Hervorbringung eines chronischen septischen Zustandes verändert nichts an der Reactionsfähigkeit der rotzigen Pferde.

Eine andere Versuchsreihe betraf die Frage, ob sich im Körper gewisser rotziger Thiere nicht Antikörper bilden, welche die Reaction verhindern. Wir versuchten auf alle mögliche Weise, indem wir Pferde und Rinder mit steigenden Dosen von Malleïn, sowie auch später mit Rotzculturen behandelten, ein gegen Rotz wirksames Serum zu bereiten und haben wir in unseren Annalen diese Versuche genauer beschrieben und einen gewissen therapeutischen Werth desselben bei kleineren Thieren festgestellt. Unsere Versuche aber, durch dasselbe die Wirkung des Malleïn abzuschwächen, führten zu negativen Resultaten. Im Reagensglas gemischte gleiche Theile von Malleïn und Serum, welche verschieden lange Zeit stehen gelassen wurden, verursachen bei rotzigen Thieren dieselbe Reaction, wie reines Malleïn; namentlich wurde bei 21 Pferden, welche auf Malleïn reagirt hatte, unter welchen zwei mit klinischen Rotzsymptomen, mit derselben Dosis Malleïn, gemischt mit Serum, injicirt, worauf alle diese Thiere ebenso typisch reagirten, wie nach der ersten Injection. Aehnliche Resultate erzielte auch Oskoloff.[1]

Es blieb nun die Vermuthung übrig, dass vielleicht der besondere Schwächezustand jener rotzigen Pferde, welche auf Malleïn nicht reagirten, der Grund dieses Mangels an Reactionsfähigkeit sein könnte, und unternahmen die Herren Prof. P. Riegler und Thierarzt Jon N. Jonescu Versuche, um dies festzustellen. In fünf Experimenten wurden Pferde, welche typisch reagirt hatten, während 3 Tage einer gänzlichen Nahrungsentziehung unterworfen. Hierauf wurden sie von Neuem malleïnisirt.

Erstes Experiment: Bei der ersten Injection war die Initialtemperatur 37·8°, erhob sich in Folge der Malleïnisirung in typischer Weise auf 40°; nach 8 Tagen 3tägiges Fasten; Initialtemperatur 37·1°, nach der Injection keinerlei Temperaturerhöhung, wohl aber diffuses schmerzhaftes Oedem an der Impfstelle.

Zweites Experiment: Initialtemperatur 37·8°; nach der Malleïnisirung *. Nach 3tägigem Fasten, wobei bloss Wasser gereicht wurde, Initialtemperatur 37·4°, keinerlei Temperaturerhöhung, bloss grosse, schmerzliche Localreaction.

Drittes Experiment: Das Pferd hat 4 Mal nacheinander typisch mit über 40° reagirt. Nach 3 Tage Fasten: Initialtemperatur 37·6°; in Folge der Injection Erhöhung der Temperatur bis 38·6°; weder allgemeine noch bedeutende locale Reaction. Nun wird das Pferd wieder gut genährt, von Neuem malleïnisirt und zeigt nun ein Ansteigen der Temperatur von 37·5 auf 39·4°, unter der Form einer kleinen typischen Reaction.

[1] Oskoloff, *Dissertation.* Jurjew 1899.

Ein viertes Pferd, welches von 37.7° Initialtemperatur bis 39.6° kleiner typischer Reaction reagirt hatte, zeigte nach 3tägigem Fasten Initialtemperatur 37·4°, nächsten Tages beträgt die Temperatur 38°, also keine thermische, wohl aber grosse locale Reaction.

Diese Versuchsreihe zeigt demnach entschieden, welche bedeutende Rolle die Abstinenz bei der Hervorbringung der Thermoreaction spielt, während die locale Reaction vom Ernährungszustande der Thiere weniger abhängig ist. Allerdings ist bei mässig gutem Ernährungszustand die Thermoreaction charakteristischer als die locale Reaction, welche letztere, wie wir dies in mehreren Fällen experimentell nachweisen konnten, auch durch andere nicht specifische Injectionen, sowie durch nicht sorgfältig aseptische Manipulation auch bei nicht reagirenden und nicht rotzigen Thieren hervorgebracht werden kann, während dieselbe, wie wir gesehen haben, bei sicher rotzkranken Thieren manchmal fehlt.

Diese Erfahrungen weisen demnach darauf hin, dass bei rotzigen Pferden, trotzdem meistens subfebrile Temperatur besteht, dennoch in mehr als der Hälfte der Fälle typische Reaction ausgelöst wird, ebenso bei nicht fiebernden rotzigen Thieren. Allerdings kommen öfters auch kleine, nicht charakteristische Reactionen vor, während der gänzliche Mangel an Reaction bei nicht fiebernden rotzigen Pferden wohl zum Theil auf einen Versuchsfehler zurückgeführt werden darf, zum Theil aber hauptsächlich im schlechten Ernährungszustand der betreffenden Thiere seine Erklärung findet. Die locale Reaction war in diesen Fällen weniger charakteristisch und fehlte manchmal, namentlich in letzteren Fällen, sowohl bei Injection unseres Malleïns sowie jenes von Roux-Nocard.

3. Fälle, wo der Rotz nach 1 bis 2 Injectionen zum Vorschein kam.

Eine zweite Gruppe von 23 Pferden dürfte ebenfalls hierher gehören, obwohl die Rotzsymptome (Nasenausfluss, Geschwüre, Drüsenschwellung) hier erst unmittelbar nach einer Malleïninjection deutlich hervortraten. In diesen Fällen fanden sich 13 Mal geringes Fieber vor der Injection (38·1 bis 38·5), bloss zwei dieser Fälle zeigten keine Reaction, während die übrigen charakteristische typische Reaction aufwiesen. Die übrigen nicht fiebernden Pferde zeigten 9 Mal grosse typische und 1 Mal atypische Reaction. Es ist unzweifelhaft, dass diese Thiere auch vor der Reaction rotzig waren, namentlich rotzige Veränderungen der Nasenschleimhaut besassen, indem die Impfungsreaction zum acuten Deutlichwerden der Krankheit offenbar beigetragen hatte, ebenso wie das Tuberculin eine reizende Wirkung auf die tuberculösen Veränderungen ausübt. In diesen Fällen war eine Localreaction immer vorhanden, allerdings aber in vier

Fällen mit Fieber so geringfügig und vorübergehend wie bei nicht rotzigen Pferden.

Viel weniger deutlich sind die Reactionen bei jenen Pferden, welche in einem Zeitraume von 2 bis 3 Wochen zwei Mal malleïnisirt wurden und bei welchen dann früher oder später, gewöhnlich nach einer Woche, Rotz klinisch constatirt wurde.

Unter 17 Pferden, welche eine Woche nach der 2. Injection als rotzig befunden und erschossen wurden, zeigten 6 kein Fieber vor der Injection und hierauf typische Reaction; 2 Fieber vor der Injection und zwei Mal typische Reaction; 4 kein Fieber, dann typische Reaction und vor der 2. Injection Fieber und nachher atypische Reaction; 1 kein Fieber vor der 1. Injection, dann typische Reaction, wohl aber Fieber vor der 2. Injection und typische Reaction; bei 2 waren beide Reactionen nicht typisch, indem hier abwechselnd Roux'sches und hiesiges Malleïn verwendet wurde.

Pferde, bei welchen nach 2maliger Injection Rotz nach 1 Monat bis 1 Jahr auftrat, sind wohl von einem anderen Gesichtspunkte zu betrachten, indem dieselben wohl später inficirt sein konnten. Allerdings finden sich unter diesen einige Fälle von bedeutender thermischer und localer Reaction.

Soviel geht aus dieser Gruppe von Untersuchungen hervor, dass kein einziges Mal Rotz bei Pferden bald nach der Malleïnisirung aufgetreten ist, wenn dieselben nicht reagirten oder Fieber hatten. In diesen Fällen war immer eine grössere oder mässige Schwellung mit mehrere Tage andauernder Localreaction vorhanden.

Indem wir nun die Versuche an rotzigen Pferden oder an solchen, die nach mehreren Injectionen an Rotz erkrankten, zusammenstellen, wollen wir bei der grossen Anzahl der Versuche folgende Abkürzungen anwenden:

Fieber vor der Injection = ‡; subfebrile Temperatur (38·2 bis 38·8) = ↑; Hypothermie = ↓; typische Reaction = *; kleine typische Reaction = †; atypische Reaction = ?; kleine atypische Reaction = (?); keine Reaction = 0; Malleïn-Roux = R; Malleïn-Foth = F. Kleine locale Reaction ·, mässige ○, grosse ⊙ (unterhalb des Reactionszeichens).

4. Längere Zeit hindurch mit Malleïn behandelte Pferde.

Zunächst können wir über eine Reihe rotziger Pferde berichten, welche kürzere Zeit mit Malleïn behandelt wurden und bei welchen das anfängliche Fieber und die Reaction allmählich geringer wurden, indem auch die klinischen Symptome abnahmen und zeitweise oder gänzlich verschwanden.

Ein rotziges Pferd mit Fieber bekam während 5 Monaten folgende Behandlung: ↑✻, ↑+, +, +, ↑✻, ↑✻, ↑+, ↑+, ↑+, ↑+, ↑0, ↑✻, ↑+, +, ↑0, ↑+, 0, 0, ↑0, 0, ↑0, ↑0, 0, 0. Während Anfangs öfters bedeutende locale Schwellungen vorhanden waren, wurden solche zuletzt nicht mehr beobachtet und war das Pferd zuletzt vollkommen gesund. Nach einem Monat ging das Pferd accidentell in Folge eines Falles, an Tetanus zu Grunde und konnten bei der Section nirgends Rotzknoten gefunden werden, mit Ausnahme einiger kleiner narbiger Verdickungen an der Nasenschleimhaut und in der Lunge, welche aber für Meerschweinchen nicht virulent waren.

Ein zweites rotziges Pferd mit Wurmgeschwüren bekam während eines Monats 7 Malleïnisirungen: ↑0, ↑0, ↑0, ↑0, ↑+, ↑+, ✻. Nach 4 Tagen wird das Pferd todt gefunden.

Während also im ersten Fall trotz der besonders allgemeinen Reaction das Pferd allmählich zu reagiren aufhörte und das Fieber nachliess, konnte bei letzterem der Process nicht aufgehalten werden.

In einem anderen Falle wurde bei einem rotzigen Pferde Folgendes beobachtet: ↑+, ↑✻, +, (?). Obwohl das Pferd sich während eines Monats auffallend gebessert hatte, wurde es doch als rotzig erschossen. Es fanden sich nur geringe Erosionen und eine kleine Geschwulst am Septum, mässige Schwellung der Submaxillardrüsen mit einigen verkalkten Knoten sowie kalkige transparente und käsige kleine Knoten in der Lunge.

Besonders interessant ist ein Fall, in welchem bei einem Pferde, welches reagirte, dann aufhörte zu reagiren, eine Rotzcultur injicirt wurde. Das Pferd bekam während 10 Monaten folgende 26 Injectionen:

(?), $\overset{\mathrm{R}}{✻}$, +, $\overset{\mathrm{R}}{?}$, 0, $\overset{\mathrm{R}}{0}$, (?) ? 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 ? 0. Inficirt mit Rotz: ↑ 0, ↑ 0, ↑ 0, 0, 0. Dieses Pferd, welches bloss einmal typisch und mässig local reagirte, wurde demnach, als die Reaction gänzlich aufgehört hatte, mit Rotz inficirt und zeigte hierauf einen Monat lang Fieber sowie morvo-farcinöse Symptome, Geschwüre, Lymphstränge, Abscesse in der Haut, am Nasenseptum und an der Trachea, hämorrhagische Drüsenschwellung, ohne aber zu reagiren, worauf das Fieber verschwand, und obwohl keine Reaction mehr zu erzielen war, bestanden die Rotzsymptome fort. Das Pferd wurde hierauf erschossen. Eigenthümlicher Weise ist hier wohl ein latenter Rotz zur Heilung gelangt, worauf nach Rotzinfection ausgebreitete Rotzsymptome entstanden, wobei weder durch unser Malleïn noch durch jenes von Foth eine Reaction ausgelöst werden konnte und auch die locale Schwellung unbedeutend war.

II. Malleïninjectionen bei Pferden, welche nicht typisch reagiren und keine klinischen Rotzsymptome aufweisen.

1. Gesunde Pferde, welche nicht reagiren.

Im ganzen wurden 7040 Pferde malleïnisirt; dieselben bekamen über 18000 Injectionen. Von denselben, welche zum grössten Theil zwei successive Injectionen bekamen, reagirten 196 jedesmal typisch, 1378 atypisch, in 122 Fällen war bei den zwei ersten Injectionen einmal eine typische Reaction vorhanden, das andere Mal keine Reaction, in 350 Fällen war einmal typische, ein anderes Mal atypische Reaction, und in 683 Fällen wechselten Atypie mit Reactionslosigkeit.

Nachdem die Malleïnisirung verseuchte Pferdebestände betrafen, betrugen die Pferde mit Reaction etwa 30 Procent der gesammten malleïnisirten Pferde. Anders verhielten sich nicht inficirte Bestände. So wurde bei den Remonten bei etwa 500 Malleïnisirungen bloss 2 Procent Reactionen, und zwar atypische, beobachtet.

Eine Serie von Pferden, welche nicht reagirten, wurde getödtet und sorgfältig secirt, namentlich ist eine Gruppe von 35 Pferden interessant. Es waren dies gesunde, gewöhnlich mit Fehlern behaftete ältere Pferde, welche zu Secirübungen verwendet wurden. Von denselben reagirte eines +, ein anderes +, 0 und zwei (?) (?). Bei 5 Pferden war mässige Localreaction, welche 2 Tage anhielt, vorhanden. Sowohl mit unserem Malleïn als mit jenem Nocards wurden bei 4 dieser Pferde jene Charaktere der Reaction beobachtet, welche nach Nocard Rotz bedeuten: Temperaturerhöhung über 1·5°, die 2 Tage anhielt, sowie länger dauernde Localreaction. Allerdings, wenn wir zwei auf einander folgende Injectionen machten, erwies sich die Reaction als nicht beständig, indem in drei Fällen das erste Mal und in einem Falle bloss das zweite Mal die Reaction auftrat. Wir werden auf dies Verhalten später zurückkommen.

Das Sectionsresultat bei diesen 35 Pferden zeigte 9 Mal in der Lunge oder in der Leber miliare oder etwas grössere fibröse oder im Inneren mörtelartige oder selbst derb käsige Knötchen, manchmal ausschälbar, transparent, manchmal mit der Umgebung verwachsen; 1 Mal war Pneumonie, 2 Mal Emphysem und 1 Mal ein Leberabscess vorhanden. In keinem Falle konnten durch das Mikroskop, durch Cultur oder Thierversuch Rotzbacillen nachgewiesen werden. Es ist zu betonen, dass die Knötchen nicht etwa bei jenen Fällen gefunden wurden, welche eine Andeutung einer Reaction zeigten, sondern gewöhnlich bei solchen, die überhaupt nicht reagirten. Es resultirt hiernach aus diesem Versuche, dass die Methode Nocard's, nach den französischen Instructionen zu urtheilen, nicht im Stande ist, uns über den Zustand der Thiere aufzuklären.

1. 0 0 verkalkte Knötchen in Lunge und Leber.
2. 0 —
3. 0 0 verkalkte, z. Th. agglomerirte Knötchen in Lunge u. Leber.
4. 0 Emphysem.
5. $\underset{\circ}{0}$ $\underset{\cdot}{0}$ nichts.
6. 0 0 verkalkte oder fibröse Knötchen in Lunge und Leber.
7. $\underset{\circ}{(?)}$ $\underset{\circ}{(?)}$ einige kleine verkalkte, nicht virulente Knötchen in L. und L.
8. 0 0 ein erbsengrosses verkalktes Knötchen in der Lunge.
9. $\underset{\cdot}{+}$ Pneumonie.
10. 0 0 zwei erbsengrosse, fibröse, innen verkäste, nicht virulente Knötchen.
11. $\underset{\cdot}{0}$ $\underset{\cdot}{0}$ Emphysem, keine Knötchen.
12. $\underset{\cdot}{+}$ $\underset{\cdot}{\uparrow}$ in der Leber drei agglomerirte, miliare, fibröse, nicht virulente Knötchen.
13. $\underset{\cdot}{+}$ 0 Emphysem, keine Knötchen.
14. 0 0 ein fibröses Knötchen in der Lunge.
15. $\underset{\cdot}{0}$ $\underset{\circ}{0}$ Leberabscess ohne Knötchen mit Kokken.
16. $\underset{\circ}{0}$ 0 Emphysem.
17. $\underset{\cdot}{0}$ 0 nichts.
18. 0 $\underset{\circ}{+}$ einige miliare, kreidige Lungenknötchen.
19. (?) (?) Gallensteine.
20. 0 0 nichts.

21 bis 25. 0 nichts.

Eine zweite Reihe von 43 gesunden Pferden, welche nach der Malleïnbehandlung getödtet wurden, zeigten folgende Verhältnisse: 32 Pferde wurden bloss einmal injicirt und zeigten in 21 Fällen keinerlei Reaction, in 11 Fällen atypische Reaction ohne Localerscheinungen. Die übrigen wurden mehrere Mal injicirt und zeigten keine Reaction, in der Regel aber mit atypischer Reaction abwechselnd. In 2 Fällen war zugleich eine nicht unbedeutende locale Reaction vorhanden. Eines der Pferde zeigte +, $\underset{\circ}{0}$. Dieses Pferd wäre also nach Nocard als rotzig bezeichnet worden, obwohl bei der Section nicht das geringste Knötchen oder Rotzsymptom beobachtet wurde. Ein anderes Pferd zeigte +, ? ohne bedeutendere Localreaction. Dasselbe wäre von Nocard als verdächtig aufgefasst worden. Diese Versuchsreihe zeigt demnach ebenfalls die Superiorität unserer Methode, indem wir in keinem einzigen dieser Fälle Rotzverdacht oder Rotzdiagnose ausgesprochen hatten.

2. Pferde ohne klinische Rotzsymptome, welche öfter malleïnisirt wurden, worauf Rotzsymptome auftraten.

Wir wollen hier jene zahlreichen Fälle anführen, wobei nach 4- bis 15maliger Injection von Malleïn in etwa 14 bis 30tägigen Zwischenräumen zuletzt Rotz klinisch zum Vorschein kam. Namentlich jene Fälle erscheinen uns wichtig, wo kurze Zeit nach der Injection die Rotzsymptome erschienen, so dass nicht oder nur ausnahmsweise angenommen werden kann, dass diese Pferde nach der letzten Malleïnisirung inficirt wurden. Es handelt sich immer um Pferde, welche deutlich reagirten, indem aber die successiven Reactionen ungemein wechselvoll verliefen. Wir wollen mit jenen Fällen beginnen, welche 3 Mal injicirt wurden und wo der Rotz nicht später als einen Monat nach der Impfung manifest wurde:

1.	⇞0, ⇞0, 0	9.	*, ⁕, ⁕
2.	*, *, ?,	10.	*, ⁕, ⁕
3.	*, ⇞0, ⁕	11.	*, ⁕, ↑⁕
4.	*, ⇞0, ↑*	12.	*, ⁕, ↑⁕,
5.	?, ↑†, ⁕	13.	⁕, ⁕, ↑⁕
6.	*, *, ⁕	14.	⁕, ↑0, ?
7.	⁕, ⁕, *	15.	*, ↑†, ⁕
8.	*, *, *	16.	?, 0, 0.

Wir sehen demnach, wie eigenthümlich sich Pferde mit verstecktem Rotz dem Malleïn gegenüber verhalten. In 15 Fällen wiesen dieselben entschieden auf Rotz hin, indem die Pferde entweder typisch reagirten oder fieberten. Nur einmal war keine Reaction zu erzielen, indem auch die locale Reaction nicht genügend ausgesprochen war, trotzdem hier wie bei allen übrigen Pferden, Nasen-, Drüsen- und Lungenrotz constatirt werden konnte.

Pferde mit 4 Injectionen, bei welchen zuletzt klinisch Rotz auftrat.

1.	↑*, ↑⁕, ↑⁕, ↑⁕	7.	⁕, ⁕, ⁕, 0
2.	↑*, ↑*, ↑⁕, ↑⁕	8.	↑⁕, ↑⁕, ↑†, ↑⁕
3.	⁕, *, ⁕, ⁕	9.	⁕, ?, ⁕, ⁕
4.	0, 0, *, ⁕	10.	⁕, ↑?, ↑⁕, ↑?
5.	↑*, ↑0, *, ⁕	11.	0, ↑0, ↑†, 0
6.	†, *, ↓†, ⇞	12.	↑0, ↑†, ⁕, ↑⁕.

Namentlich die letztere Reihenfolge ist interessant, indem sich die Reactionen allmählich steigerten. In allen diesen Fällen war mässige

oder grosse Localreaction vorhanden und entwickelte sich 8 bis 40 Tage nach der letzten Injection manifester Rotz, indem auch die Section Nasen-, Drüsen- und Lungenrotz nachwiesen.

Auftreten des Rotzes nach der 5. Injection.

1. ⁂ ⁂ ⁂ ⁂ ⁂, 3. ⁂, ⁂, 0, ⁂, +,
2. ↑⁂, ⁂, ↑0, ?, ?, 4. 0, +, +, ⁂, ⁂,
5. ?, 0, ⁂, ⁂, ⁂.

Das Pferd Nr. 1 wurde 1 Monat nach der letzten Injection getödtet, zeigte aber nur fibröse oder kalkige Knötchen in der Lunge, welche nicht infectiös waren. Die übrigen Pferde hatten manifesten Rotz.

Ein Pferd, welches 6 Injectionen bekam, verhielt sich folgendermaassen: ?, ?, ⁂, ?, 0, ⁂. Erst nach 3 Monaten manifestirte sich Rotz. Aus dieser Reihenfolge ist zu ersehen, wie Pferde öfter typisch reagiren, dann wieder nicht reagiren und später wieder von Neuem empfindlich werden. Man müsste hier allenfalls annehmen, dass das Pferd in wenigen Monaten mindestens 2 Mal mit Rotz inficirt worden wäre.

Pferde mit 7 Injectionen.

1. ?, ⁂, ?, ?, ?, ?, ?. 2. ?, 0, 0, ↑?, ↑0, ⁂, 0.
3. ⁂, ⁂, ⁂, ⁂, ↑⁂, ↑?, 0.

Diese drei Reihenfolgen sind insofern interessant, als im ersten Falle das Pferd offenbar versteckten Rotz hatte, welcher sich fast nur durch eine atypische Reaction und geringer localer Schwellung manifestirte, dieses Pferd wäre von Nocard nicht als rotzig betrachtet worden, indem derselbe das Pferd nicht zum zweiten Mal malleïnisirt hätte. Der zweite Fall ist insofern interessant, als sich hier im Verlaufe von 11 Monaten wahrscheinlich eine latent gebliebene Rotzinfection abgespielt hatte, welche vielleicht zurückging; jedenfalls war die letzte Injection reactionslos und doch ging das Thier nach einem Monat an Rotz zu Grunde. Auch der letzte Fall ist nicht ohne Interesse, nachdem er zeigte, wie bei einem rotzigen Pferde die Reaction allmählich abnimmt und selbst verschwindet, ohne dass deswegen der Rotz geheilt sei, nachdem 1 Monat später manifester Rotz auftritt und bei der Section acute und chronische Rotzveränderungen gefunden werden.

Pferde mit über 10 Injectionen, worauf Rotz auftritt.

Die zwei folgenden Pferde bekamen im Verlaufe von 2 Jahren je 13 Injectionen mit folgendem Verlauf:

1. ⁂, ⁂, ⁂, ⁂, 0, 0, 0, ?, ?, ?, ⁂ ⁂ ⁂.
2. ⁂, ⁂, ⁂, ⁂, ⁂, ?, ?, ?, ?, ⁂, ⁂, ⁂, ?.

Es muss hier wohl angenommen werden, dass in der That Pferde mehrere Jahre lang an latentem Rotz leiden können, bis er dann endlich zum Ausbruch kommt.

Bisher haben wir die Reaction bei Pferden betrachtet: 1. welche klinisch manifesten Rotz aufwiesen, 2. Pferde, welche gesund waren und bei der Section keinerlei Rotzveränderungen aufwiesen, und 3. solche, bei welchen nach einer Reihe von Impfungen Rotzsymptome auftraten.

Aus unseren Erfahrungen geht demnach hervor, dass bei rotzigen Pferden fast immer eine typische Reaction mit oder ohne subfebriler Initialtemperatur vorhanden ist. Bei Fieber hingegen ist oft keine Reaction zu constatiren und manchmal findet sich statt der typischen Reaction eine atypische gewöhnlich mit initialer subfebriler Temperatur. Bei mehreren successiven Injectionen eines rotzigen Pferdes überwiegen jedenfalls die typischen Reactionen, doch finden sich neben denselben oft auch atypische und selbst Fehlen der Reaction. Letzteres wurde manchmal auch bei nicht fiebernden Pferden von Anfang an beobachtet und können zum grossen Theil auf ungenügende Ernährung zurückgeführt werden.

In den meisten Fällen war zwar bei den rotzigen Pferden eine locale Reaction zu verzeichnen, manchmal selbst bei solchen, die thermisch nicht reagirten, allerdings aber fehlte in etwa 10 Procent der typisch reagirenden Pferden die charakteristisch grosse Localreaction. In etwa 10 Procent der Fälle wären die rotzigen Pferde nach Nocard als nicht rotzig oder bloss als rotzverdächtig angesehen worden, während nach unseren Kriterien in keinem einzigen Falle Rotz ausgeschlossen werden konnte. Besonders betonen wollen wir noch die grosse Häufigkeit der subfebrilen Temperatur bei manifest rotzigen Pferden, welche die Reactionsfähigkeit nicht beeinflusst.

In der zweiten Gruppe haben wir ein sehr werthvolles Material gesunder Pferde zusammengestellt, welche nach unserer Methode nicht reagirten, während mehrere derselben nach Nocard oder auch nach Preusse als rotzverdächtig oder als rotzig betrachtet worden wären, indem manche derselben 2 Tage andauernde Temperaturerhöhung von 1 bis 1·5° sowie mässig locale Reaction aufwiesen. Dennoch erwies die Section, dass dieselben keinerlei Rotzläsion aufwiesen, während in anderen Fällen, welche überhaupt nicht reagirten, manchmal eine grössere oder kleinere Anzahl von Knötchen in Lungen und Leber gefunden wurden, welche nach Nocard rotziger Natur wären. Allerdings konnte in denselben nichts Virulentes nachgewiesen werden. Wir werden auf diese Fälle noch zurückkommen.

Die dritte Gruppe ist insofern interessant, wie wir dies schon angedeutet haben, dass sie das Verhalten des Organismus lange Zeit vor Ausbruch der Krankheit wiedergiebt und zeigt, dass Pferde eine Zeit lang reagiren können, dann aufhören zu reagiren, von Neuem reagiren, um manchmal gänzlich zu reagiren aufzuhören, worauf dann die Rotzkrankheit zum Ausbruch gelangen kann. Wir haben im Ganzen in 18 Fällen constatirt, dass bei Pferden die Rotzkrankheit ausbrach kurze Zeit nachdem die Thiere aufgehört hatten zu reagiren, während in 292 Fällen bei Thieren die Krankheit zum Ausbruch kam, welche bis zuletzt reagirt hatten.

Die bisherigen Untersuchungen haben noch gezeigt, dass unser Mallein, das Nocard'sche und das Foth'sche, wenn genau titrirte Dosen angewendet werden, dieselben Resultate liefern.

III. Die sogenannten Rotzknötchen.

a) Die Knötchen der Pferde ohne klinische Rotzsymptome, welche auf Mallein reagirten.

Der grösste Theil der malleïnisirten Pferde zeigte, wie wir gesehen haben, keine Reaction; etwa 30 Procent derselben reagirten, am häufigsten jene Pferde, welche neben rotzigen Pferden gestanden hatten. Wenn die Pferde getödtet und secirt werden, finden sich dann am häufigsten in Lunge und Leber, aber auch in Lymphdrüsen und Milz verschieden grosse Knoten in grösserer und geringerer Anzahl, welche in unseren Fällen etwa in 10 bis 20 Procent virulentes Rotzmaterial beherbergt. In meiner Abhandlung: „Ueber versteckten und latenten Rotz"[1], konnte ich nachweisen, dass in solchen Fällen gewöhnlich nach längerer oder kürzerer Zeit die Thiere aufhören zu reagiren, indem dieselben, wenn sie dann getödtet werden, zwar Knoten in inneren Organen enthalten, welche aber nicht mehr virulent sind. Andererseits konnte die Maleïncommission in zahlreichen Fällen nachweisen, dass auch ganz gesunde Pferde nicht infectiöse Knötchen in den inneren Organen beherbergen können. Allerdings sind die Knötchen bei nichtreagirenden Pferden viel häufiger in inficirten Pferdebeständen, etwa 40 bis 60 Procent, als in nichtinficirten Gegenden, wo sie nur bei 5 bis 10 Procent angetroffen werden. Dieselben haben wir nie virulent angetroffen und man kann sagen, dass der letztere Procentsatz darauf hinweise, dass die Knötchen in inficirten Beständen in der Regel rotziger Natur seien. In der That weisen auch andere Ver-

[1] *Semaine médicale.* 1895.

hältnisse darauf hin, dass grössere Pferdebestände immer weniger gesunde und resistente Thiere beherbergen, als die mehr einzeln oder im Freien lebenden Pferde. So zeigen die Pferde in den Regimentern in etwa 20 Procent Malleïnreaction und auch die nichtreagirenden häufig Knötchen und verschiedene innere Krankheiten, während wir unter etwa 600 Remonten kaum 1 bis 2 Procent reagirende Pferde fanden und indem auch die letzteren, welche zuerst reagirten, bei einer zweiten Malleïnisirung nicht mehr reagirten; in den inneren Organen solcher Pferde fanden sich nur ganz ausnahmsweise Knötchen, während gesunde Pferde aus Bukarest in etwa 40 Procent nicht infectiöse Knötchen zeigten und gesunde Pferde aus inficirten Regimentern ebenfalls häufig Knötchen aufweisen. Dennoch kann diese Häufigkeit der Knötchen in inficirten Beständen und in grossen Städten nicht einfach auf geheilte Rotzknötchen zurückgeführt werden, ebenso wenig als in Städten oder in grösseren Menschengruppen alle Knötchen in inneren Organen auf Tuberculose zurückgeführt werden können, obwohl allerdings in grossen Städten die Tuberculose sehr verbreitet ist und hier auch bei anscheinend gesunden Menschen tuberculöse Veränderungen in inneren Organen häufig sind, während solche bei gesunden Landbewohnern ungemein selten gefunden werden. Man muss eben bedenken, dass bei dichter Bevölkerung, namentlich in grossen Städten, nicht nur Tuberculose häufiger ist, als auf dem Lande, sondern auch andere Krankheiten, welche zu Knotenbildung in inneren Organen führen können.

Die bisherigen Untersuchungen zeigen demnach nur soviel, dass in der That die meisten Knötchen in Lunge und Leber rotzigen Ursprungs sind; wir können aber weder Nocard beistimmen, welcher behauptet, dass alle solche Knötchen rotzigen Ursprungs wären, noch Schütz, welcher meint, dass die meisten derartigen Knötchen nicht rotziger Natur seien.

b) Pathologische Anatomie der Knötchen.

Indem wir nun näher in die Natur dieser Knötchen eingehen, können wir folgende Formen derselben unterscheiden:

I. **Wurmknoten.** Dieselben wurden von Schütz und Olt gut beschrieben. Wir fanden solche sowohl bei nicht rotzigen als bei verdächtigen und rotzigen Pferden, in letzteren Fällen zugleich mit Rotzknötchen. Allerdings fanden wir in denselben oft nicht die von Schütz beschriebenen eosinophylen Elemente, und konnten wir durchaus nicht alle verkalkten Knötchen, sondern bloss einen kleinen Theil derselben auf Würmer zurückführen, indem wir auch in Knötchen sicher rotzigen Ursprungs nicht selten auch Verkalkung fanden. Der rotzige Ursprung der Knötchen

konnte namentlich durch Uebergangsformen festgestellt werden, so ist in Taf. III, Fig. 2, I offenbar ein älterer Knoten rotzigen Ursprungs, in welchem Kalkkörner *K* angetroffen werden, während das subpleural verkalkte Knötchen II wohl desselben Ursprungs ist. Allerdings sind die verkalkten Knötchen in Fig. 1 als Wurmknötchen aufzufassen.

II. Miliare, runde, durchscheinende, gewöhnlich leicht ausschälbare Knötchen; dieselben sind histologisch aus concentrischen Lagen von hyaliner Substanz zusammengesetzt, in der Mitte manchmal erweicht und granulirt, manchmal etwas Kern- und Zelldetritus enhaltend; zwischen den hyalinen Schalen finden sich stellenweise ganz platte kleine Zellen. Die ganze durchscheinende Masse ist von einer Art Kapsel umgeben, in welcher manchmal die Wand eines stellenweise ausgedehnten Gefässes zu erkennen ist. Diese Kapsel geht durch Vermittelung eines an fixen Elementen mässig reichen Gewebes in das umgebende, gewönlich etwas verdickte Bindegewebe über. Solche Knötchen fanden wir nicht selten bei verdächtigen und häufig bei rotzigen Pferden. Wir betrachten die Knötchen, zum grossen Theil wenigstens, als in stellenweise erweiterten Gefässen gebildete modificirte Thromben, welche offenbar mit Rotz nichts zu thun haben und auch nichts enthalten, was rotziger Natur wäre oder gewesen sein konnte.

III. Aehnliche Knötchen, die aber aus lymphatischem oder Granulationsgewebe oft mit auffallend grossen Zellen bestehen. Diese Knötchen sind gewöhnlich subpleural mit einer blätterigen fibrösen Kapsel mit gequollenen, gewöhnlich pigmentirten fixen Zellen, Plasmazellen und wenigen Wanderzellen. Das Knötchen besteht aus Granulationsgewebe oder aus einem raticulirten Gewebe mit grossen Zellen, welche gegen die Mitte des Knötchens blass gefärbt granulirt, kernlos oder mit Kernfragmenten angetroffen werden. Es handelt sich hier wohl meistens um veränderte Lymphfollikel, in deren Umgebung das Bindegewebe verdickt und die Alveolen stellenweise mit granulirter Substanz und mit gequollenen Epithelien erfüllt sind. Manche dieser Knötchen enthalten Sternzellen, zwischen welchen homogene, zum Theil schleimige oder hyaline Substanz vorhanden ist. Endlich zeigen andere derartige miliare Knötchen bloss an der Peripherie Granulationsgewebe, welches gegen das Centrum zu nekrosirt, in diesem zugleich zahlreiche Wanderzellen mit eigenthümlich beeren-büschelförmig oder sternförmig entarteten Kernen, wie ich dieselben bei Rotz beschrieben habe. Derartige Knötchen sind oft von erweiterten Gefässen umgeben, welche ähnliche Zellen enthalten; auch finden sich manchmal in deren Umgebung geringe Blutergüsse in den Alveolen. Namentlich diese letzteren Knötchen, welche häufig bei Rotz oder rotz-

verdächtigen Fällen gefunden werden, sind wohl rotziger Natur, indem in denselben zwar Rotzbacillen unter dem Mikroskop nicht gefunden wurden, Cultur und Experiment aber manchmal positive Resultate gaben. Allerdings fand ich viele als vergrösserte Lymphfollikel bezeichnete Knötchen in meinen Versuchen nicht virulent.

IV. Miliare, scleröse oder verkalkte Knötchen. Dieselben sind als Reste von irgend welchen entzündlichen Veränderungen, als narbige Producte anzusehen. Es handelt sich gewöhnlich um eine Verdickung des interstitiellen Gewebes mit dem Auftreten von fibroplastischen Elementen sowie von Ausfüllung der Alveolen durch neugebildetes Gewebe. Sie enthalten oft einen homogenen hyalinen oder verkalkten Kern, manchmal mit Granulationsgewebe in der Umgebung von Gefässen. Ausserdem finden sich kalkige miliare Knötchen, welche leicht ausschälbar und von ähnlichen narbigem, weissem oder pigmentirtem Gewebe umgeben sind. Derartige Knötchen finden sich häufig bei ganz gesunden Pferden und natürlich trifft man sie oft auch bei rotzigen Pferden, nachdem dieselben durch den Rotzprocess nicht verschwinden. Allerdings ist es unzweifelhaft, dass auch kleine Rotzknötchen unter Zurücklassung derartiger Knötchen heilen, indem wir auch in unzweifelhaft rotzigen Knötchen Kalkkörnchen finden konnten und Kalkstaub in Rotzculturen lange Zeit erhalten bleibt, so dass der von Schütz behauptete absolute Mangel an Kalksalzen in Rotzknötchen nicht bestätigt werden konnte.

Es ist auffallend, dass in vielen Fällen von Rotz neben den Veränderungen der Nasenschleimhaut u. s. w. zahlreiche miliare, durchscheinende Knötchen in den Lungen gefunden werden, während bei nichtrotzigen Pferden solche Knötchen bloss in wenigen Exemplaren vorkommen. Die miliaren Knötchen bei Rotz sind gewöhnlich zum grossen Theil acuter Natur, aus frischem Zellmaterial und nekrotischem Gewebe bestehend, während die Knötchen bei gesunden Pferden gewöhnlich thrombotischer Natur oder narbig oder verkalkt sind. Aber eben bei Thieren, welche reagiren und rotzverdächtig sind, ohne klinisch oder experimentell Rotz aufzuweisen, findet man oft bloss miliare Knötchen in grösserer oder geringerer Anzahl, weder so viel wie bei manifestem Rotz, noch so wenig und so unbedeutend, wie bei gesunden Pferden.

V. Miliare peribronchiale Rotzknötchen. Gerade in frischen Rotzfällen ist die Lunge oft von miliaren weisslichen und durchscheinenden, von einem röthlichen Hof umgebenen Knötchen durchsetzt. Dieselben zeigen in ihrer weiteren Entwickelung gewöhnlich bloss eine interstitielle Zellwucherung und ein erweichtes Centrum. Es ist eine sorgfältige Untersuchung nöthig, um zu erkennen, dass es sich um peribronchiale Knötchen handelt. Man kann die Bildung dieser Knötchen von den kleinsten

Bronchien aus verfolgen (siehe Taf. IV, Fig. 3 *B*), dieselben zeigen wucherndes Epithel, zwischen welchem längliche basophile, granulirte Elemente, wohl entartete Zellen, auftreten. Gegen das Lumen zu erleiden dieselben eine eigenthümliche vacuoläre oder glasige Quellung und im Inneren der erweiterten Bronchien finden sich ausser abgestossenen und nekrosirten Epithelien Fragmente von Leukocyten und Granulation, hier und da einzelne Bacillen und rothe Blutkörperchen. Ausserdem aber findet man in den kleinsten Bronchien sowie in den Alveolen durch Hämatoxylin blass gefärbte Massen, in welche oft Kerne eingebettet sind, so dass hierdurch der Eindruck von Riesenzellen entsteht; übrigens erkennt man hier auch wahre Riesenzellen mit peripherer Lagerung der Kerne. In der Umgebung der Bronchien findet man kleine Schleimdrüsen mit glasig gequollenem Epithel; das peribronchiale Gewebe ist bedeutend verdickt und zu einem rundzelligen Granulationsgewebe entartet, welches sich zwischen die benachbarten Alveolen erstreckt, indem dieselben bedeutend verkleinert und mit gequollenem Epithel ausgekleidet sind. Dieselben enthalten ebenfalls homogene Massen. Hier findet man auch verdickte, in ihrer Wandlung zellig proliferirte Gefässe, öfters von kleinen Hämorrhagien umgeben. Es ist unzweifelhaft, dass auch hier die Veränderung der Gefässwand zu Hämorrhagien geführt hat. Diese Elemente bilden nun die frischen, kleinsten peribronchialen Knoten. Die mehr umschriebenen, etwas grösseren Knoten sind etwas älteren Datums. Der centrale Bronchiolus ist bedeutend ausgedehnt (Fig. 3 *B'*), die Epithelien nekrotisch, der Bronchus ist ausgefüllt mit fragmentirten Leukocyten und einer granulirten Substanz, in welcher zerfallene Bacillen zu liegen scheinen. An einer Stelle ist nun der Bronchus gewöhnlich ulcerirt und erstreckt sich ein Pfropfen der Detritusmasse (*c*) in die Umgebung des Bronchus, das Centrum des Knötchens bildend. Hierauf folgt gegen die Peripherie zum Theil Granulationsgewebe, zum Theil homogene Masse, in welcher neugebildete Gefässe ein Netzwerk bilden. Von hier aus erstreckt sich dann neugebildetes zellreiches Gewebe zwischen die Alveolen, welche sehr klein rundlich, mit einer hohen Epithelschicht bekleidet, den Eindruck mehr eines Drüsengewebes hervorbringt, in denselben finden sich wahre Riesenzellen (*R*). Andere Alveolen sind weniger comprimirt, enthalten desquamirte sowie namentlich grössere rundliche Elemente von basophilen Granulationen erfüllt. Endlich erfolgt eine Schicht von Granulationsgewebe mit proliferirten, verdickten Gefässen, mit homogener gequollener Wandung und Hämorrhagien (*ha*).

Der peribronchiale Charakter dieser miliaren Knötchen ist insofern interessant, als er darauf hinweist, dass die kleinsten Rotzknötchen nicht hämatogenen, sondern bronchialen Ursprungs sein dürften.

Fig. 4 zeigt diese Verhältnisse bei stärkerer Vergrösserung. Namentlich erkennt man die Entartung der Epithelzellen (*E*), die Invasion der beerenbüschelähnlichen Kerne (*e*), die Zusammensetzung des Rotzpfropfens (*r*), dessen Durchbruch in das peribronchiale Gewebe (*wp*). Die Alveolen der Umgebung sind von wucherndem Epithel (*w a*) mit Mytosen und Riesenzellen (*R*) erfüllt. Die Riesenzellen sind hier ein regelmässiger Befund und sind der Ausdruck der Regenerationstendenz des Alveolenepithels, indem ich auch experimentell bei Rotz eine Knospenbildung der Alveolen unter der Form von Riesenzellen behufs Ausfüllung des zu Grunde gegangenen Gewebes constatiren konnte.

Bekanntlich behauptet Nocard, dass der Lungenrotz die primitive und initiale Form des Rotzes darstelle, welche namentlich durch Infection des gastrointestinalen Tractus zu Stande kommt. Mehrere interessante Versuchsreihen sollen diese Ansicht stützen. Es wurden Pferden Kartoffelstücke, in deren Inneres Rotzculturen eingeführt wurden, derart beigebracht, dass dieselben die oberen Luftwege nicht inficiren konnten. Allerdings ist man nie sicher, ob nicht doch die Kartoffel von Aussen inficirt oder nicht infectiöses Material dennoch beim Schlingact oder später an der Schleimhaut des Schlundes haften geblieben sein konnte. In der That entwickelten sich bei solchen Pferden gewöhnlich miliare Knötchen in den Lungen. — Später ging Nocard weniger scrupulös vor, indem er dem Trinkwasser Culturen beimengte; natürlich inficirte dieses Wasser nicht nur den Verdauungscanal, sondern auch die oberen Luftwege, so dass die nun entstandenen Lungenknötchen ganz gut durch Aspiration oder durch die oberen Lymphwege in die Lungen gelangen konnten. Ueberhaupt ist es ja precär, anzunehmen, dass der Rotzbacillus zunächst in den Darm gelangen müsse, um von dort aus die Lungen zu inficiren, ohne in dem Darm selbst irgend welche Veränderungen hervorzubringen. Der Rotzbacillus ist eben kein derartiger Parasit, welcher den Organismus unbeschädigt zu durchwandern pflegt; wenn derselbe die Darmschleimhaut nicht angreift, ist es sehr wahrscheinlich, dass er auch nicht in dieselbe eindringt, um in einem entfernten Organe und namentlich in den Lungen Knoten zu erzeugen. Jedenfalls würde derselbe in einem solchen Falle zunächst andere Organe, welche im innigeren Connex mit den Därmen sind, tiefer schädigen, als gerade die Lunge; er müsste denn zunächst in die Lungenarterie gelangen. Wir kennen zahlreiche Infectionen, welche vom Darme ausgehen; dieselben localisiren sich aber entweder in der Umgebung des Darmes oder in den Lymphdrüsen oder im Mesenterium, in der Milz, in der Leber oder in anderen benachbarten Geweben. Allerdings finden sich bei Rotz auch Knötchen in der Leber und Milz, oft aber bloss in der Lunge und jedenfalls viel verbreiteter in

der Lunge als in anderen Organen. Im Gegentheil ist uns kein Fall bekannt, in welchem Rotzknötchen bloss in Leber und Milz vorhanden gewesen wären. Aber selbst angenommen, dass die Rotzbacillen vom Darme aus direct in die Lunge gelangen, müsste dann doch unbedingt vorausgesetzt werden, dass die Lungenveränderungen zunächst hämatogener, embolischer Natur seien, was eben in der Mehrzahl der Fälle nicht zutrifft, besonders nicht in vielen Fällen, wo die rotzige Natur der Knötchen gesichert ist. In diesen Fällen haben wir es eben grösstentheils mit bronchialen und peribronchialen Veränderungen zu thun, indem die Gefässe bloss in zweiter Linie verändert werden. Das älteste in solchen miliaren Rotzknötchen ist eben oft der Eiterpfropf im Inneren eines erweiterten gewucherten Bronchus. Dieser Eiterpfropf kann wohl kaum anders erklärt werden, als durch Aspiration von Rotzbacillen bis in die kleinsten Bronchialäste, wo dieselben dann eine Entzündung der Schleimhaut und deren Umgebung veranlasst. Da in solchen Knötchen auch die Lymphgefässe der Lunge keine Rolle spielen, ist es nicht wahrscheinlich, dass die Bacillen etwa durch die mediastinalen Lymphwege in die Lunge gelangt sei. Wir wollen deswegen durchaus nicht die Möglichkeit ausschliessen, dass in gewissen Fällen, so in jenen mit miliaren Knötchen lymphatischer Natur, und wo zugleich Knötchen in den bronchialen Lymphdrüsen vorhanden sind, die Bacillen auch auf dem Lymphwege in die Lungen gelangen konnten. Ebenso haben wir Fälle gesehen, in welchen es sich um kleine Gefässthromben handelt, welche Knötchen bilden, und auch in anderen Fällen muss eine hämatogene, embolische Infection angenommen werden.

Die Untersuchungen von Schütz zeigen in der That, dass wenn man sehr vorsichtig vorgeht, indem man Rotzbacillen in dicke, äusserlich desinficirte Gelatinekapseln einschliesst und Pferden mit den nothwendigen Vorsichtsmaassregeln beibringt, zwar Rotz erzeugt wird, zudem aber in diesen Fällen die wesentlichsten Veränderungen in den Lymphwegen des Darmes und der Mesenterialdrüsen und in den retroperitonealen Drüsen sowie in Leber und Milz vorhanden sind. Auch finden sich dann Veränderungen in der Darmwand selbst, während in der Lunge nur frischere Krusten zu finden sind.

VI. Die embolischen Lungenknötchen finden sich nicht nur bei ausgesprochenem Rotz, sondern auch bei latenten Formen als kleine periphersche Infarcte. Dieselben charakterisiren sich an der Peripherie durch eine bedeutende Hyperämie der centralen Gefässe, während gegen das Centrum verdickte, erweiterte, mit Blutpigment und gelben Granulationen oblitterirte Arterien angetroffen werden. Die comprimirten Alveolen sind von einer granulirten Substanz von fragmentirten Leukocyten sowie von grösseren rundlichen, vacuolären oder von basophilen granulirten

Elementen erfüllt. Eigenthümlich sind noch in diesen Infarcten die Bronchien, welche eine ungemeine epitheliale Proliferation zeigen, erweitert sind und Pfröpfe von mucopurulenter Substanz mit fragmentirten Kernen und grossen vacuolären Massen aufweisen. Oft kann man die Organisation mit kalkiger Entartung im Centrum derartiger Infarcte verfolgen. In frischen Infarcten konnten wir keine Bacillen entdecken, doch waren dieselben in manchen Fällen virulent. Die kleinen fast miliaren Infarcte finden sich häufig bei Pferden, welche keinerlei klinische Rotzsymptome zeigen.

Hier will ich noch darauf aufmerksam machen, dass die so charakteristischen Hämorrhagieen bei Rotz offenbar einer eigenthümlichen Schädigung der Gefässwand und deren Umgebung zugeschrieben werden müssen, welche mit mässiger Zellwucherung beginnend zur Bildung einer homogenen durch Hämotoxylin bläulich gefärbten Substanz führt und die Gefässwand und deren Umgebung einnimmt (Taf. IV, Fig. 3 *h*).

VII. Grössere umschriebene Knoten. Dieselben wechseln mit den miliaren Knoten ab. Neben zahlreichen miliaren Knoten finden sich manchmal erbsen- bis haselnussgrosse, mehr oder minder scharf umgrenzte Knoten, die im Centrum entweder mörtelartig oder auch kalkig, nicht selten käsig oder käsig-eitrig verändert und häufig von einer hämorrhagischen Zone umgeben sind. In Fällen, wo klinische Rotzsymptome nicht vorhanden sind, sind sie seltener, sehr zahlreich oft bei klinisch-manifestem Rotz.

VIII. Kleinere parenchymatöse Herde. Dieselben, gewöhnlich acuter Natur, gehen meist von Alveolen oder Infundibeln aus, welche von Leukocyten mit chromatinreichen Kernfragmenten, zwischen welchen Bacillen liegen, erfüllt sind. Auch die Alveolarsepten sind geschwellt, die benachbarten Alveolen von Leukocyten erfüllt, doch bacillenfrei. Diese Herde sind von einer hyperämischen oder hämorrhagischen Zone umgeben, in welcher eigenthümliche hyaline Massen in inniger Beziehung zu Gefässen angetroffen werden. Durch die Confluenz dieser Herde entstehen ausgebreitete Pneumonieen. Andererseits nekrosiren und vereitern diese Knoten oft unter Mitwirkung derer Bakterien.

Die Interpretirung der verschiedenen Knötchen wird noch dadurch erschwert, dass oft alte, jüngere und frische Knoten und Herde rotziger und nicht rotziger Natur zugleich angetroffen werden, wie dies einige Beispiele zeigen sollen:

Pferd Stechmayer. Es sind klinisch acute Lungenläsionen zu beobachten. Die Alveolen sind mit einer gleichförmigen granulösen Substanz ausgefüllt (Oedem). Die Alveolen enthalten rothe Blutkörperchen. Ausserdem sind vollkommene hämorrhagische Herde zu beobachten. In der Nähe des interstitiellen Gewebes erkennt man eine bedeutende Schwellung der Alveolen-

epithelien, die granulös sind und kleine Kerne beherbergen; das Lumen der Alveolen wird manchmal von ihnen ausgefüllt. Aus dem interstitiellen Gewebe entwickelt sich die Proliferation eines fibro-plastischen Gewebes, das in die Alveolen dringt, sie verstopft, und ein compactes, scleröses Gewebe bildet, in welchem das Alveolarnetz noch zu erkennen ist.

So entsteht ein fibröses Gewebe, welches miliare, mehr fibröse Knoten bildet, die von embryonären Zonen umgeben sind.

Dieses Granulationsgewebe findet sich besonders in der Umgebung von Gefässen; es sind aber auch Herde vorhanden, die den Charakter von Lymphfollikeln aufweisen, von wo aus Stränge, wahrscheinlich lymphatischen Ursprungs, ausgehen, die ebenfalls aus kleinen Zellen gebildet sind.

Ein grösserer Knoten mit erweichtem Centrum zeigt folgende Structur: derselbe ist von einer Kapsel umgeben, die aus verhärtetem fibrösen Gewebe gebildet ist; dieses Gewebe ist zellarm, dient zur Insertion der alveolären Septen der Nachbarschaft.

Indem aber der Knoten nicht ganz, sondern bloss zur Hälfte von der Kapsel umgeben ist, so ist derselbe zum Theil schlecht begrenzt. Die Alveolen aus der Umgebung sind theilweise mit neugebildetem Gewebe sowie mit geschwelltem Epithel erfüllt und von einem mono-nucleären Granulationsgewebe umgeben, das sich bis in die erweichten Massen fortsetzt.

Es ist aber zu bemerken, dass gegen das Centrum des Knotens das interstitielle Gewebe immer dicker und zellreicher wird, die Alveolen werden immer kleiner und verschwinden schliesslich ganz, oder aber sie verharren bloss als Zellanhäufungen mit dem Aussehen von Riesenzellen mit kleinen Kernen, die theilweise zerstört und abgeblasst sind.

Man erkennt, dass die Verdickung des Gewebes von den Wänden der erweiterten, mit Blut gefüllten Gefässe ausgeht. Ausserdem bemerkt man hier Gefässe, die mit Pfropfen von Leukocyten ausgefüllt sind und mehrere folliculäre Gruppen, die aus reticulärem Gewebe bestehen. An einer Stelle findet sich in einem kleinen Bronchus des Knotens, theilweise desquamirtes Epithel, während das Lumen granulöse albuminöse Massen enthält und der Bronchus von einer dichten Zone mono-nucleären Granulationsgewebes mit öfters fragmentirten Kernen umgeben ist. Dort, wo der Knoten von einer fibrösen Kapsel umgeben ist, folgen nach dieser Kapsel erweiterte, mit Thromben vollgestopfte Gefässe, dann eine Schicht von runden kleinen Zellen, die mit Bündeln fibro-plastischen Gewebes vermischt sind. Darauf folgt dem Centrum zu eine einförmige ungefärbte Schicht, woselbst noch die alveoläre Structur der Lunge zu erkennen ist; die Septa sind dünn und enthalten Kernfragmente, während die Alveolen von einem glänzenden fibronösen Netze mit Kernresten ausgefüllt sind.

Das erweichte Centrum ist ebenfalls von Lungenalveolen gebildet, wo aber mit einem Male eine Menge kleiner, unregelmässiger Kernfragmente, sowie stark gefärbter Globi erscheinen, die wahrscheinlich nucleären Urprungs sind.

Man sieht hier noch einzelne kleine Stäbchen, wahrscheinlich Rotzbacillen.

Pferd Jcotka. Die Lunge ist hyperämisch, die kleinen Gefässe erweitert, die Alveolen comprimirt. In der Umgebung der Bronchien sind diffuse Herde vorhanden, und ödematöse Stellen in der Umgebung der Gefässe. Die übrigens ziemlich kleinen Herde sind von verschiedenen Ele-

menten gebildet. Die Alveolen enthalten geschwelltes, vacuoläres und pigmentirtes Epithel. Dem Centrum zu ist oft ein scleröses, interstitielles Gewebe vorhanden, in welchem viele geschwellte, fixe Plasmazellen enthalten sind. Es finden sich ausserdem sclerosirte und obliterirte Gefässe und schliesslich kleine Embryonalknoten mit fixen mononucleären Zellen. Die Bronchien zeigen epitheliale Desquamation. Zwischen den Epithelzellen finden sich viele Ehrlich'sche (Mast-) Zellen, sowie auch in der Umgebung der Bronchien. Hier und da bemerkt man isolirte, kleine, miliare Knötchen, die aus fixen Zellen gebildet sind und im Centrum Pigmentmassen enthalten. Zu erwähnen sind noch eine Anzahl feiner, violetter Granulationen, besonders in den dichteren Zellherden.

Die Läsionen finden sich also besonders in der Umgebung der Bronchien. Ausser Zellen, Schleim und desquamirtes Epithel enthalten die Bronchien auch noch runde, vacuoläre, bläuliche, tropfenförmige Gebilde, von der Grösse der Leukocyten.

Pferd Brain. Kleine hämorrhagische Herde mit Fibrin in den Alveolen. Zwischen den Herden sind mehrere Knötchen vorhanden, besonders im interstitiellen Gewebe, ohne dass ein intimer Zusammenhang zwischen denselben und den Bronchien vorhanden wäre.

Die Knötchen sind von einem fibrösen oder fibroplastischen Gewebe umgeben. Dieses Gewebe geht in das eigentliche Gewebe des Knötchens über.

Das Knötchen besteht aus einem Zellnetz, vielen Plasmazellen mit stark gefärbtem (violettem) Protoplasma, das mit grösseren Zellen und cubischen oder runden Epithelien ausgefüllt ist. Hier erkennt man unregelmässige Hohlräume mit Zellen vollgestopft, die wahrscheinlich endothelialer Natur sind.

In der Umgebung von Gefässen sitzen ähnliche Knötchen und in ihrer Mitte finden sich kleine Bronchien mit desquamirtem Epithel, die noch ziemlich viele Leukocyten mit hyperchromatischem Kernzerfall enthalten. Auch sind Gefässe mit verdickten Wänden vorhanden. Die Bronchien sind ganz von Zellpfropfen ausgefüllt. Man sieht auch Schleimdrüsen der Bronchien mit modificirtem Epithel, so dass sie zu grossen Blasen umgewandelt scheinen, wohl eine mucöse Umwandlung. In der Umgebung der Alveolen sind grosse pigmentirte Zellen vorhanden, während die Lymphgefässe mit proliferirten Endothelien vollgestopft sind.

Aus diesen Untersuchungen geht nun hervor, dass bei rotzigen Pferden sowie bei solchen ohne klinische Rotzsymptome oft virulente Knoten in Lunge und Leber gefunden werden, viel häufiger aber solche Knoten, welche nicht virulent sind und von welchen durchaus nicht immer nachzuweisen ist, dass sie rotzigen Ursprungs seien, Nocard will die Frage mittels Experimenten entscheiden. Es wurden sechs Pferde aus nicht infectiösen Regimentern, und welche nicht reagirten, verwendet; vier derselben bekamen in's Trinkwasser eine Rotzcultur. Schon nach 2 Tagen stieg die Temperatur um über 2° und eine am 6. Tage ausgeführte Malleïninjection verursachte eine grosse locale Reaction; am 8. Tage waren die Lymphdrüsen geschwellt und ein Pferd hatte Nasenausfluss und Geschwüre. Nach 14 Tagen wurde eines dieser Pferde sowie ein Controlpferd

getödtet und die Lungen voll miliarer, zum Theil translucider Knötchen gefunden. Zwei andere Pferde und ein Controlpferd wurden nach 2 Monaten getödtet und zeigten chronischen Rotz und zahllose Knötchen in den verschiedensten Stadien, grössere kalkige Knötchen, sowie kleine junge, welche alle infectiös waren. In einer zweiten Serie wurden 12 Pferde aus gesunden Beständen, welche nicht reagirten, mit Culturen im Trinkwasser inficirt; dieselben reagirten alle nach 14 Tagen, mehrere dieser Thiere bekamen klinische Rotzsymptome und wurden getödtet. Bei acht dieser Pferde kam der Rotz nicht klinisch zum Ausbruch, doch als dieselben nach verschiedener Zeit, nach 7—8—9—10 Monaten getödtet wurden, nachdem sie in letzter Zeit nicht mehr auf Mallein reagirten, fand man in den Lungen zahlreiche fibröse, käsige oder durchscheinende Knötchen, welche aber nicht infectiös waren.

Aus diesen Experimenten folgert Nocard nicht nur, dass in seinen Experimenten die nicht infectiösen Knötchen morvösen Ursprungs sind, und dass in seinen Versuchen der versteckte Rotz geheilt wurde, sondern dass ähnliche Knötchen immer Rotz bedeuten und dass das Aufhören der Reaction immer die Heilung des Rotzes anzeigt. Während in seinen Experimenten dies ja angenommen werden kann, haben unsere zahllosen Versuche doch gezeigt, dass diese Experimente nicht ohne Weiteres verallgemeinert werden dürfen, indem Nocard nichts von jenen zahllosen Fällen berichtet, in welchen Pferde reagiren und doch absolut nichts Infectiöses in ihren Knötchen und in ihren inneren Organen aufweisen, indem es ganz ausgeschlossen ist, dass dieselben dennoch irgend einen versteckten Rotzherd beherbergen. Ebenso gut könnten ja dann auch jene Pferde Nocard's, welche er als geheilt betrachtet, irgend einen versteckten Rotzherd beherbergen.

Zweitens ist es durchaus nicht bewiesen, dass Pferde, welche nicht mehr reagiren, nicht rotzig oder geheilt seien. Wir haben schon bisher zahlreiche Fälle angeführt, wo Pferde aufhören zu reagiren, worauf dann sich Rotz klinisch manifestirt, oder wo die Pferde nicht nur einmal, sondern periodisch mehrere Male zu reagiren aufhörten, um dann von Neuem gegen Mallein empfindlich zu werden und typisch zu reagiren. Es geht eben nicht an, durch einige Experimente an 18 Thieren jenen Hunderten, ja Tausenden und Jahre lang dauernden Experimenten gegenüberzustellen, welche wir angestellt hatten, und welche zu Resultaten führen, die von jenen Nocard's gänzlich abwichen. Die übrigen Tausende von Resultaten Nocard's haben dem gegenüber keinen Werth, nachdem dieselben auf ungenügenden Kriterien beruhen und nicht genügend controlirt wurden. Es ist eben nicht genügend, Tausende von Pferden zu injiciren und dann zu sagen, jene, welche einmal reagirt haben, seien rotzig, und

jene, welche nicht reagirt haben, seien nicht rotzig; auch genügt es nicht, die sogenannten rotzigen Pferde 1 bis 2 Monate stehen zu lassen, sie dann noch einmal zu malleïnisiren, um dann sagen zu können, jene Pferde, welche nun nicht mehr reagiren, sind geheilt, und die anderen, welche reagiren, rotzig. Wenn Nocard diese Behauptungen controliren würde, würde er sogleich finden, dass im Gegentheil ein Pferd, welches er als rotzig erklärt, nicht rotzig ist, indem oft dasselbe auf eine zweite successive Injection nicht mehr reagiren würde; oder aber wenn er dies einmal reagirende Pferd tödten würde, würde er häufig im Körper dieses Pferdes absolut nichts Virulentes finden können. Wenn er aber Pferde, welche er als geheilt betrachtet, systematisch noch weiter malleïnisiren würde, würde er finden, dass häufig die Injection von Neuem eine Reaction auslöst, die Pferde also durchaus nicht alle geheilt seien.

IV. Die nicht manifest rotzigen Pferde.

1. Pferde mit verdächtigen Symptomen.

Die Commission verfügt über 20 Pferde, welche typisch reagirten, ohne Rotzsymptome zu zeigen oder bloss irgend ein verdächtiges Symptom, bei welchen aber nach dem Tode infectiöse Knötchen gefunden wurden.

1. Geringe Schwellung des Vorderbeines bis zum Schenkel mit zwei kleinen oberflächlichen Geschwüren. Reaction: *, ↑ *. Nach dem Tode finden sich zahlreiche Geschwüre in der Lunge, durchscheinende Knötchen mit opakem Centrum sowie grössere verkäste Knoten mit hämorrhagischer Peripherie. Experiment positiv.

2. Einige kleine Pusteln am Nasenseptum, geringer Ausfluss und schmerzlose Kehlkopfdrüsen. Während 3 Monate wurde das Pferd 12 Mal malleïnisirt mit folgender Reaction: ↑ *, †, ↑ *, ↑ *, ↑ *, $\overset{R}{\uparrow}$ *, ↑ 0, ↑ *, ↑ *, ↑ *, ↑ ?, *. Immer entstand an der Impfstelle eine grössere Geschwulst. Schon nach der 1. Injection manifestiren sich Rotzsymptome. Das Thier wurde getödtet und fand sich ein kleines Geschwür am Nasenseptum, viel käsiger Eiter in den Sinus, eine taubeneigrosse, käsige hämorrhagische Geschwulst an der Lungenfläche, zahllose durchscheinende virulente Lungenknoten.

3. Taubeneigrosse submaxillare Lymphdrüse. Reaction: ↑ *. Das Pferd wird erschossen und zeigt ausser der succulenten und hämorrhagischen Drüse eine faustgrosse Hepatisation an der Lungenspitze mit kleinen Abscessen. Ausserdem zahlreiche, hanfsamengrosse Knötchen, zum Theil mit hämorrhagischer Zone.

4. Abscedirte Drüse. Reaction: ↑ *. Nach der Injection erschienen kleine Abscesse an den Mundwinkeln. Das Pferd wird getödtet und zeigt zwei tiefe Nasengeschwüre. In der Lunge neben zahlreichen, zum Theil verkästen hanfkorn- bis haselnussgrosse Knoten sowie einige kleinere hepatisirte Stellen. Reincultur von Rotzbacillen.

5. Sero-mucöser Ausfluss. Reaction: * *. Das Pferd wird getödtet und finden sich am Septum sternförmige Narben und links ein grösseres Geschwür mit erhabener pulpös-eitriger Basis. Zahllose miliare Knötchen durchscheinend oder kalkig in Lunge und Leber. Aus einigen der Knötchen mit käsigem Centrum wurden Rotzculturen gewonnen.

6. ↑ *, $\overset{B}{\uparrow}$ *. Abscesse am Rücken und Lymphstränge, im Eiter Rotzbacillen. Nichts in der Nase, in der Lunge aber zahlreiche frische und verkreidete Knötchen. Erbsengrosse verkreidete Knoten in der Leber. Positive Culturversuche aus den Lungenknötchen.

7. Das Pferd hustet und zeigt eine Schwellung des linken Hinterschenkels. Reaction: ↑ *, ↑ 0, ↑ †. Nach der Injection erscheinen Rotzsymptome, namentlich Wurmgeschwüre, Trachealdrüsen geschwellt, hämorrhagische Larynxgeschwüre. In Leber und Milz kreidige Knötchen. An der Milzoberfläche flache Verdickung der Kapsel, unter welcher ein gelbliches, granulirtes hämorrhagisches Gewebe. Culturversuch positiv.

8. Fötider, grünlicher, beiderseitiger Nasenausfluss. Kleine Drüsenschwellung links. †, ↑ 0. Symptome nach der Injection mehr ausgesprochen. Das Thier geht nach einigen Tagen ein. Kleine Geschwüre am Nasenseptum, zahlreiche miliare bis erbsengrosse, eingekapselte, von hämorrhagischer Zone umgebene Knötchen. In der Leber kreidige Knötchen. In der Milz einige hämorrhagische Infarcte. Culturversuch positiv.

9. Geringer grauer Ausfluss. Kleine Drüsengeschwulst; rechts am Rücken eine bewegliche, thalergrose, derbe, subcutane Geschwulst. Das Pferd wurde getödtet, die Geschwulst besteht zum Theil aus derbem, zum Theil aus verkalktem Bindegewebe. Am Nasenseptum einige oberflächliche Erosionen. In der Lunge etwa 10 haselnussgrosse, fleischige, hämorrhagische Knoten, einige mit gelblichem Centrum, andere im Innern verkalkt, an der Peripherie speckig und mit hämorrhagischer Zone, ausserdem zahllose miliare, zum Theil durchscheinende, zum Theil im Centrum erweichte Knötchen, welche Rotzculturen geben.

10. Schwellung des linken Hinterschenkels mit furunkelähnlich erweichtem Knoten mit Lymphstrang. * ↑ *. Nach der Malleïnisirung entstehen Geschwülste, Abscesse, Lymphstränge mit Rotzbacillen. In der Lunge zahlreiche frische, etwa nussgrosse Knoten mit hämorrhagischer, plastischer Pleuritis. Zahlreiche miliare, zum Theil hämorrhagische und vereiternde

Knötchen, sowie zahlreiche miliare, knorpelähnliche Knötchen, ebenso in der Milz.

11. Fötider, grünlicher, beiderseitiger Nasenausfluss. Kleine lappige Drüsengeschwulst. ↑*, ↑*, 0 (intravenöse Injection). Cultur aus dem Ausfluss negativ. Am Nasenseptum oberflächliche Erosionen, im Sinus käsige Massen. Zahlreiche, hanfgrosse, kalkige Knötchen, andere käsig, manchmal mit hämorrhagischer Zone. An der Oberfläche drei haselnussgrosse frische, fleischige, hämorrhagische, im Centrum gelbliche Knoten, welche Rotzculturen gaben.

12. Seröser Ausfluss. Kleine indolente Drüse. Sternförmige Narben mit congestiver Zone am Septum. Husten und Niesen. * ? (intravenös). Culturversuch aus dem Nasenausfluss negativ. Das Pferd wird getödtet und fanden sich an den Muscheln kleine Geschwüre, in den Lungen zahlreiche miliare, zum Theil kalkige, kreidige, zum Theil käsige, eingekapselte Knötchen mit hämorrhagischer Zone, einige grössere, fleischige Knötchen, welche Rotzbacillen geben.

13. An dem linken Hinterschenkel diffuse Geschwulst mit Excoriationen und Calloritäten. *, *. Das Pferd wurde getödtet. Pleurale Verdickung, unter welcher verkreidete oder käsige Knötchen zu finden sind; einige erbsengrosse Knötchen mit käsigem Centrum und hämorrhagischer Peripherie, aus welchem Rotzculturen gewonnen wurden.

14. Drüse, kleine Narben am Septum. ↑*. Lunge von zahlreichen grösseren und kleineren fleischigen, hämorrhagischen Knoten durchsetzt, andere sind kreidig, käsig oder durchscheinend. Positiver Culturversuch an den frischen Knötchen. In der Leber kalkige Knötchen.

15. Pferd magert schnell ab, hustet, Epistaxis. * *. Sectionsergebniss: in der Trachea Geschwüre und Narben, zahlreiche miliare und grössere fleischige oder durchscheinende, im Centrum käsige Knötchen mit hämorrhagischer Zone. Scleröse Plaques an der Pleura, welche kleinen Abscessen oder Cavernen entsprechen, zum Theil mit grösseren Bronchien communicirt. Ausserdem Hepatisation mit eitriger Infiltration in umschriebenen Herden. In der Leber mehrere käsige, kreidige Knötchen mit hämorrhagischer Peripherie. Rotzculturen.

16. Schleimiger, bilateraler Ausfluss. Das Pferd hustet und magert ab. Aus dem Ausfluss konnten Rotzculturen nicht gewonnen werden. Im Verlaufe eines Monats wurden 4 Injectionen gemacht: *, *, ↑ +, ?. In der Trachea kleine Geschwüre mit hämorrhagischer Basis. In der Lunge zahlreiche miliare, kreidige Knötchen. Grössere fleischige Knötchen mit erweichtem pulpösen Centrum. Rotzculturen.

17. Reichlicher muco-purulenter Ausfluss, aus welchem keine Rotzculturen gewonnen werden. Am Septum Narbe. Das Pferd hinkt auf einem Fuss. ↑ +, ↑ 0, ↑ 0. Sectionsergebniss: in der Tiefe des Septums ausgebreitete Geschwüre. In der Lunge zahlreiche hanfgrosse oder grössere translucide oder käsige Knoten mit hämorrhagischer Zone. Derbe Plaques an der Pleura und in derselben kreidige Knötchen. In der Milz Infarcte. Rotzculturen.

18. Das Pferd magert schnell ab. Fieber und Narben am Septum. Nach Abnahme des Fiebers ist die Reaction ↑ *. Nach einigen Tagen wird das Pferd todt gefunden. In der Lunge bloss wenige erbsengrosse fleischige, hämorrhagische, im Centrum graue, erweichte Knötchen. Wenige durchscheinende und kreidige miliare Knötchen. Die frischen Knoten geben Rotzculturen.

19. Geringer, einseitiger, schleimiger Ausfluss mit kleiner indolenter Drüse. Aus dem Nasensecret keine Rotzculturen. Reaction: 0, 0. Unbedeutende locale Reaction. Sectionsergebniss: in der Trachea zahlreiche Geschwüre mit geschwellter Basis. In den Lungen zahllose durchscheinende, miliare Knötchen mit erweichtem Centrum sowie andere grössere fleischige, dunkelrothe und im Centrum erweichte Knötchen. Auch kleine Cavernen mit Hepatisation und gelbe Pleuralverdickungen. Rotzculturen.

20. Schleimiger, beiderseitiger Ausfluss. Rechts eine kleine Drüse. Das Pferd hustet und magert schnell ab. Reaction: *, ↑*, 0, 0. 10 Tage nach der letzten Injection wird das Thier getödtet und fanden sich in der Tiefe des Septums Knötchen und ein kleines Geschwür. Kleine und grössere käsige und kreidige Lungenknötchen sowie einige carnificirte Herde. In der Leber kreidige Knötchen. Rotzculturen aus den käsigen Knoten.

In diesen Fällen waren zwar die Symptome nicht charakteristisch und der Ausfluss nicht virulent, so dass die positive Reaction, welche in der Regel mit bedeutender localer Schwellung einherging, offenbar zur Sicherung der Diagnose beitrug. Die Pferde haben sowohl nach unserer Methode als nach jener von Nocard reagirt, obgleich, wie es gleich bemerkt werden muss, dann in 2 Fällen die Pferde aufhörten zu reagiren. in einem Falle die Reaction überhaupt 0 war, und doch auch in diesen Fällen virulenter Rotz gefunden wurde.

2. Pferde ohne klinische Symptome, welche reagirt haben und infectiöse rotzige Knötchen beherbergen.

Wichtiger als diese Fälle sind jene, bei welchen keinerlei klinisch verdächtige Symptome vorhanden waren und die Thiere nach einer oder

mehreren positiven Reactionen getödtet wurden. In diesen Fällen waren in etwa 20 Procent infectiöse Lungenknötchen vorhanden. Wir wollen 12 solche Fälle in Kurzem hier anführen.

1. ↑ $\underset{\circ}{*}$. Nach 14 Tagen wird das Thier getödtet. In der rechten Lungenspitze findet sich eine kindskopfgrosse hepatisirte Stelle mit einer Caverne, welche röthliche eitrige Substanz enthält und mit erweiterten, mit Knötchen und Geschwüren bedeckten sehr hyperämischen Bronchien communiciren. In anderen Lungentheilen kleinere ähnliche hepatisirte Stellen und mehrere miliare, kreidige und käsige, eingekapselte Knötchen, letztere gaben Rotzculturen.

2. ↑ $\underset{\circ}{*}$. Kleine Trachealgeschwüre mit hämorrhagischem Grund, zahlreiche erbsen- bis haselnussgrosse hämorrhagische, zum Theil im Innern erweichte, schmutzig-weissliche Knoten. In der linken Lungenspitze eine hepatisirte Stelle, die mit derben Knötchen und Strängen durchsetzt ist. Rotzculturen.

3. ↑ $\underset{\circ}{*}$. Geschwüre in der Trachea, miliare und grössere, durchscheinende oder frische hämorrhagische, sowie käsige eingekapselte Knötchen. In der rechten Lungenspitze eine hepatisirte Stelle mit zahlreichen käsigen Knötchen. Rotzculturen.

4. ↑ $\underset{\circ}{*}$. In der Tiefe der Nase verschmelzende Geschwüre. In der Lunge zahlreiche grössere, erbsen- bis haselnussgrosse homogene, hämorrhagische Knötchen, manchmal mit schmutzig-grauem, erweichtem oder käsigem Centrum. Ausserdem zahlreiche miliare, durchscheinende und kreidige Knötchen. Auch in der Bronchiadrüse zahlreiche Knoten. Rotzculturen aus den frischen Knoten.

5. Das Pferd hustet. $\overset{F}{*}$ $\overset{R}{*}$. Bloss Veränderungen in der Lunge: 15 grössere, bis haselnussgrosse hämorrhagische Knoten, ausserdem wenige miliare, durchscheinende, im Centrum käsige Knoten. Aehnlicher Knoten in der Milz. Frische Knoten geben Rotzculturen.

6. $\underset{\circ}{*}$ $\overset{R}{\underset{\circ}{*}}$. In der Lunge bloss ein durchscheinender, erbsengrosser, in der Mitte käsiger Knoten; ausserdem ein miliares und ein verkalktes Knötchen. Die Mediastinaldrüsen sind aber vergrössert, hämorrhagisch, succulent, mit kleineren follicularen Knötchen. Einige kalkige Knötchen in der Leber; in der Milz 10 haselnussgrosse, in der Mitte verkäste Knoten, welche Rotzculturen geben. Hier handelt es sich mehr um eine Localisation in der Milz.

7. ↑ ⁕. Narben im Nasenseptum; wenige miliare Knötchen mit hämorrhagischer Zone in der Lunge und ein haselnussgrosser hämorrhagischer Knoten. Mehrere kreidige Knötchen in der Leber, Culturen negativ. Ein geimpftes Meerschweinchen zeigt charakteristischen Rotz.

8. ⁕. In der Lunge zahlreiche miliare, durchscheinende Knötchen mit hyperämischer Zone. Ein erbsengrosses Knötchen mit käsigem Centrum. Zahlreiche ähnliche Knötchen in der Leber; aus denselben Rotzculturen.

9. ⁕, $\overset{F}{⁕}$, †, ?$\overset{F}{⁕}$, 0, $\overset{F}{⁕}$. Eine Narbe in der Trachea. Wenige miliare, kreidige Knötchen in der Lunge, ausserdem einige erbsengrosse Knötchen mit käsigem Centrum. Rotzculturen positiv.

10. ↑⁕, ⁕, ↑?, 0, 0, 0, ⁕, 0, ⁕, $\overset{F}{↑}$?. Dieses Pferd wurde während eines Monats 10 Mal injicirt; dasselbe hatte aufgehört zu reagiren und reagirt zuletzt von Neuem. Im Nasenseptum einige Narben. Zuletzt entwickelte sich eine Schwellung der Submaxillardrüse. Zahlreiche kreidige und durchscheinende miliare Knötchen, einige mit hämorrhagischer Zone, sowie einige kleine frische Infarcte; in der Leber einige kreidige Knötchen. Aus den Infarcten Rotzculturen.

11. ⁕. Zahlreiche miliare, durchscheinende oder kreidige Knötchen in der Lunge, sowie einige erbsengrosse, ähnliche Knötchen. Ein ähnlicher Knoten in der Milz. Das injicirte Meerschweinchen zeigt ein Rotzgeschwür und geht an Rotz zu Grunde.

12. ⁕. Durchscheinende kreidige Knötchen, einige mit käsigem Centrum von Hanfkorn- bis Erbsengrösse. Auch in der Leber fanden sich 4 Knoten. Culturen und Thierversuch positiv.

3. Pferde mit Reaction ohne infectiöse Knötchen.

Dem gegenüber stehen zahlreiche Fälle, in welchen Thiere, welche typisch reagirt hatten, in der Lunge zahlreiche miliare, kreidige, durchscheinende, manchmal im Centrum käsige, eingekapselte Knötchen, häufig auch erbsengrosse und grössere, derb-fibröse, verkalkte oder zum Theil auch käsig-kalkige, mörtelartige Knötchen, und ebensolche in der Leber und auch in der Milz zeigten, ohne dass das Mikroskop, Cultur und Thierversuch Rotzbacillen nachgewiesen hätten. Wir wollen bloss einige derselben hier kurz erwähnen:

1. $\underset{\circ}{⁕}$. Zahlreiche miliare, kreidige oder durcheinende, im Centrum käsige Knötchen. Zahllose ähnliche Knötchen in der Leber. Wenige

erbsengrosse, unregelmässige, fibröse, im Centrum käsige oder mörtelartige Knötchen. Kein Bacillennachweis.

2. ↑ ✻. Wenige verkreidete, bis erbsengrosse Knötchen in Lunge und Leber, sowie stellenweise subpleurale Ecchymosen.

3. ✻. Zahlreiche kreidige und zum Theil mörtelartige, derb-fibröse oder kalkige, gewöhnlich leicht ausschälbare Knötchen in Lunge und Leber.

4. ✻ ✻ ✻. An der rechten Lungenspitze ein carnificirter Herd, erbsen-
○ ○ ○
grosse, derbe, kreidige Lungenknötchen, sowie fibröse Knötchen mit mörtelartigem Centrum. Umschriebene gelbe Verdickung der Leberkapsel, unter welcher ein derber, gewundener Strang, wahrscheinlich ein verkalkter Wurm, sitzt.

5. ✻ ✻ ✻. Einige atrophische Depressionen des Nasenseptums, sowie einige Knötchen, welche oberflächlichen Thromben entsprechen. Zahlreiche miliare, durchscheinende Lungenknötchen. In der Leber hanfkorn- bis erbsengrosse Knötchen mit kreidigem Centrum, stellenweise grössere Herde bildend, indem zwischen denselben das Lebergewebe fibrös entartet ist.

6. Im Verlaufe von 2 Jahren wurde 1 Pferd 12 Mal malleïnisirt mit folgender Reaction: ✻, ✻, ✻, ↑✻, †, †, ↑†, ?, ✻, ✻, ✻, ✻. Zugleich war mässige locale Reaction vorhanden. Nach einer Woche wurde das Thier getödtet und bei der Section wurden keinerlei rotzige Veränderungen, bloss in den Lungen einige verkalkte Knötchen und einige derartige erbsengrosse mit mörtelartig erweichtem Centrum gefunden, aus welchen aber Rotzculturen nicht gewonnen werden konnten.

7. Ein anderes Pferd wurde ebenso lange mit einer gleichen Anzahl von Injectionen behandelt und zwar mit folgendem Resultat:

✻ ✻ ✻ ✻ ? 0 ✻ ✻ ✻ ✻ ✻ ✻.

Nach einer Woche wird das Pferd getödtet und fanden sich bloss miliare und etwas grössere derbe, verkalkte Knötchen in der Lunge.

8. Dreizehn Injectionen während eines Jahres:

✻ ✻ ✻ ✻ 0 0 0 ? ? ? ✻ ✻ ✻.

In diesem Falle wurden zahlreiche verkalkte Knötchen gefunden, in welchen weder Bacillen noch lebendes Virus nachgewiesen werden konnten. Ebenso wenig konnten in den Knötchen thierische Parasiten constatirt werden.

9. Dreizehn Injectionen während 2 Jahren:

✻ ✻ ✻ ✻ ✻ ? ? ? ? ✻ ✻ ✻ ?.
○ ○ ○ ○ ○ ○

Ziemlich bedeutende Localreaction nach den meisten Injectionen. Hier

wurden ebenfalls kleinere oder grössere verkalkte oder auch käsig-verkalkte Knötchen gefunden, in welchen Rotzbacillen nicht nachgewiesen werden konnten.

10. Fünfzehn Injectionen während 34 Monaten:

? * + ? ? * + ? ? 0 0 + * * *
○ ○ ○ · · ○ ○ · · ○ ○ ○ ○ ○ ○

Nach einer Woche wird das Thier getödtet und fanden sich bloss miliare bis linsengrosse, nicht bacillenhaltige, verkreidete Knötchen.

11. Ein anderes Pferd mit vierzehn Injectionen während 34 Monaten:

? 0 ? ? 0 ? 0 ? 0 0 0 ? * *.
· · · · · · ○ ○ · ○ ○ ○ ○ ○

Nach einer Woche wird das Thier getödtet und fanden sich bloss miliare bis linsengrosse durchscheinende Knötchen; einige derselben hatten ein mörtelartiges Centrum. Miliare ähnliche Knötchen in der Leber. Bacillen konnten auf keinerlei Weise gefunden werden.

Die Erfahrungen und Versuche zeigen jedenfalls, dass die Experimente Nocard's und die daraus gezogenen Schlussfolgerungen die Frage nach der Bedeutung der Knötchen nicht genügend aufgeklärt haben. Nocard hat einfach gezeigt, dass nach künstlicher Infection Pferde nach kurzer Zeit Rotzknötchen in der Lunge aufweisen. Seine Versuche sind aber nicht dafür beweisend, dass die Rotzbacillen in der Regel vom Intestinaltractus aus in die Lunge dringen, nachdem auch das Eindringen durch die rasirte Haut des Meerschweinchens, sowie durch die normale Conjunctiva und Nasenschleimhaut von mir bewiesen wurde und in Nocard's Versuchen auch jene durch die oberen Luftwege schon a priori nicht ausgeschlossen ist und nachdem ich für einem grossen Theil dieser Knötchen den bronchialen Ursprung nachgewiesen habe. Allerdings ist es nicht ausgeschlossen, dass Knötchen auch auf dem Blut- und Lymphwege in der Lunge zu Stande kommen, was für gewisse Formen, namentlich für die infarctähnlichen Knoten sogar sicher ist. Die Experimente Nocard's haben allerdings nachgewiesen, dass diese Knötchen allenfalls virulent sind und später, wenn das Pferd zu reagiren aufhört, nicht mehr virulent sind.

Zugleich aber will Nocard beweisen, dass alle Knötchen, welche bei Pferden in den Lungen vorkommen, rotziger Natur sind, was allerdings aus seinen Versuchen nicht hervorgeht, und auch die Angabe, dass einige seiner Pferde, welche gesund waren, keine Knötchen beherbergen, zeigt keineswegs, dass überhaupt gesunde Pferde nicht Knötchen verschiedenen Ursprungs aufweisen können. So konnte ich mittels eines aus entzündlichen Producten der Lunge gewonnenen Bacillus bei Pferden Lungenknötchen erzeugen, welche den rotzigen ganz ähnlich waren, ebenso wie

ja bekanntlich auch Wurmknoten sowie andere Fremdkörper jedenfalls vorkommen. Was aber in unseren Versuchen die Nocard'sche Auffassung am wirksamsten bekämpft, ist die Thatsache, dass eine Reihe gesunder Pferde, welche nicht auf Malleïn reagiren, nicht nur fibröse, sondern im Centrum erweichte Knötchen nachweisen können, deren Structur sich von gewissen Rotzknötchen nicht wesentlich unterscheiden. Allerdings würde Nocard diese Fälle zum Theil als geheilte Rotzfälle betrachten, was wir aus den oben angeführten Gründen nicht ohne Weiteres zugeben können. Am schlagendsten und am deutlichsten werden durch die Untersuchungen zwei Behauptungen Nocard's entkräftet: 1. dass Pferde mit Reaction immer virulentes Material beherbergen, und 2. dass Pferde, welche reagirt haben und aufgehört haben zu reagiren, von Rotz gänzlich geheilt sind. Eben unsere letzten Versuchsreihen haben sehr deutlich nachgewiesen, dass mehr als die Hälfte der typisch reagirenden Pferde wohl Knötchen, doch kein virulentes Material beherbergen. Da nun ein Theil unserer Versuche zugleich zeigt, dass wir im Stande sind, das geringfügigste virulente Material als solches nachzuweisen, ist es nicht gestattet, unsere zahlreichen negativen Resultate etwa auf Versuchsfehler zurück zu führen, denn ebenso gut könnte man dann Nocard vorwerfen, nicht genau gesucht zu haben, wenn er behauptet, dass in seinen Experimenten die Pferde, die nicht mehr reagiren, von Rotz geheilt seien. Wir müssen eben in unserer Wissenschaft daran festhalten, mit gleichem Maasse zu messen und Thatsachen nicht durch Hypothesen zu bekämpfen. Wir müssen allerdings immer sehr vorsichtig und kritisch vorgehen und können sagen, dass vielleicht, wenn wir genauer untersuchen würden, dennoch Rotzbacillen gefunden werden würden und in unseren Conclusionen deswegen reservirt vorgehen., aber zu sagen, dass, wo wir trotz unserer sorgfältigen Untersuchungen nichts gefunden, doch, unserer Hypothese zu Liebe, virulentes Material vorhanden sein muss, das entspricht nicht der naturwissenschaftlichen Methode.

Ebenso sicher täuscht sich Nocard, wenn er behauptet, dass ein Pferd, welches reagirt hat und nicht mehr reagirt, sicher von Rotz geheilt sei. Wir haben schon bisher zahlreiche Versuchsreihen gesehen, wo Pferde aufhörten zu reagiren, um ganz kurze Zeit danach von Neuem zu reagiren, oder wo sehr bald nach dem Aufhören der Reaction, und zwar mittels des Roux-Nocard's Malleïns, der Rotz manifest wurde.

Es ist demnach sicher, dass Pferde aufhören können zu reagiren und dennoch lebende Rotzkeime beherbergen, während allerdings in der Regel Pferde, welche an latentem Rotz leiden und welche aufhören zu reagiren, gewöhnlich der Heilung entgegen gehen oder geheilt sind.

V. Die Bedeutung des Aufhörens der Malleïnreaction.

Von 6058 Pferden reagirten 2128, und von diesen trat manifester Rotz in 310 Fällen auf, während die übrigen, mit Ausnahme von etwa 50, welche geopfert wurden oder an anderen Krankheiten zu Grunde gingen, zu reagiren aufhörten und als geheilt betrachtet wurden. Im Verlaufe der längere Zeit — bis ca. 3 Jahre — andauernden Malleïnisirungen hörten die Pferde oft zu reagiren auf, um dann wieder von Neuem zu reagiren; so reagirten 114 Pferde das erste Mal und nach 8 bis 14 Tagen nicht mehr, was bei der grossen Zahl wohl nicht darauf zurückgeführt werden kann, dass diese Pferde so schnell vom Rotz geheilt wurden, nachdem die Natur der Knötchen derartig ist, dass zur Heilung längere Zeit nothwendig ist. Bei 147 Pferden, bei welchen mehrere, bis 20 Malleïnisirungen ausgeführt wurden, konnten wir constatiren, dass die typische Reaction in atypische und in Reactionslosigkeit überging, um dann von Neuem der typischen Reaction Platz zu machen. Wir konnten selbst periodisch diese Erscheinungen beobachten, so dass es durchaus nicht angeht, anzunehmen, dass die Pferde so oft nach einander von Rotz geheilt seien, um wieder von Neuem zu erkranken, obwohl dieselben separirt und sorgfältig vor Infection behütet wurden. Allerdings waren in anderen Fällen fortwährend typische und atypische Reactionen vorhanden, indem zuletzt, also nach Jahren, entweder manifester Rotz auftrat oder aber solche Pferde getödtet wurden, wonach aber in der Regel kein virulentes Material im Organismus gefunden wurde. Während bei 292 Pferden, welche zuletzt noch reagirt hatten, der Rotz manifest wurde, konnte bei 18 Pferden Rotz beobachtet werden, nachdem dieselben zuletzt nicht mehr reagirt hatten.

Wir lassen einige Beispiele über die Experimente folgen.

Zunächst wollen wir auf die bisher beschriebenen Fälle verweisen, in welchen die Thiere, nachdem sie kurz nach einander malleïnisirt wurden, bald reagirten und bald nicht und doch endlich als rotzig befunden wurden. Wir wollen auf dieselben nicht von Neuem zurückkommen.

A. Pferde, welche mit rotzigen Pferden in Contact waren, reagirten, nach einer gewissen Zeit aufgehört haben zu reagiren und seitdem gesund blieben.

Drei Injectionen.

1.	⁙ ○	R ⁙ ○	0 ·	
2.	?	0	0	
3.	⁙ ○	0 ·	0	
4.	⁙ ·	†	0	
5.	† ○	R † ○	0 ○	0.

Vier Injectionen

6. +(○) +[R](○) ✻(○) 0
7. ✻ ✻ ↑0 0
8. ✻ ✻ 0 0
9. + ✻ 0 0
10. + + 0 0
11. ✻ + 0 0
12. ✻ ✻ 0 0
13. + + 0 ?
14. + + ✻[F] 0
15. 0 ✻[F] 0[R] 0[R]
16. ✻ ?[R] 0 0
17. + +[F] 0[F] ?[F]
18. + ✻[F] 0 ?
19. + +[F] +[F] 0[F]
20. + +[F] 0[F] 0[F]
21. + 0 ? 0
22. + ✻ ? (?)
23. 0(○) ?(·) 0(·) 0.(·)

Fünf Injectionen.

24. + 0 0 ? 0.

Sechs Injectionen.

25. + +[F] (?) (?) ↑(?) ↑0 während 6 Wochen
26. + ↑? ↑0 ? 0 0 „ 6 „
27. ✻ ✻ ✻[F] 0 0 ? „ 6 „

Hier sowie auch früher konnte beobachtet werden, dass das Foth'sche Malleïn, welches stärker wirkt, gewöhnlich von einer geringeren Reaction nach Injection unseres Malleïns gefolgt ist.

Sieben Injectionen.

28. ✻ ✻[F] ✻ ?[F] 0 0 0 während 3 Monaten
29. + ✻ ✻ ✻[F] 0 0 0 „ 3 „
30. ✻ ↑+ ✻ ?[F] 0 0 0 „ 2½ „
31. ↑+ ? ✻ +[F] (?) 0 (?) „ 3 „
32. ✻ ✻ ? ? 0 0 0 „ 3 „
33. ✻ ✻[F] ✻ ✻[R] (?) 0 0 „ 2½ „
34. ? + ✻ ✻ (?) 0 (?) „ 1 Monats
35. ? (?) ? ? 0 0 ↑0 „ 1 „

Acht Injectionen.

36. ✻ +[F] ? ? 0[F] 0 0 (?) während 1½ Monaten
37. ✻ ✻[F] ? ? 0 ?[F] 0 0 „ 1½ „
38. ✻ ✻[F] + + + ? (?) (?) „ 1½ „

39. + [F]+ [F]+ [F]* [F]* 0 0 0 während 3 Monaten

40. + [F]* [F]* [F]0 [F]? (?) 0 0 „ 3 „

Neun Injectionen.

41. * * * * * * * + (?) während 2 Monaten
○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○

42. + * * + + * * 0 0 „ 2 „
○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○

Zehn Injectionen.

43. + [F]* + + [F]* (?) (?) 0 0 0 während 2 Monaten

44. * * * * * ? ? ? (?) 0 „ 1½ „
○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ⊙ ○

45. * * * * * * + ? ? (?) „ 1½ „
○ ○ ○ ○ ○ ⊙ ⊙ ○ ○ ○

46. * * * * * [F]* * (?) ? ? „ 1½ „
○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○

Elf Injectionen.

47. + * * * * ? ? 0 (?) 0 (?) während 6 Monaten

48. * [R]* * * * 0 0 ? 0 0 [F](?) „ 6 „

49. * [R]* * * * ? ? ? ? (?) 0 „ 6 „

50. * + [R]* * ? * ? ? (?) 0 0 „ 6 „

51. * [R]* * * * (?) ? (?) 0 (?) (?) „ 6 „

52. * * * * * * (?) (?) ? ? 0 „ 4 „
○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○

53. * * * * * ? ? ? 0 ? (?) „ 2 „
○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○

54. * * * * ↑* * (?) (?) (?) (?) 0 „ 2 „
○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ⊙ ⊙ ⊙ ○

Dreizehn Injectionen.

55. + [F]+ ? * [F]* 0 [F]? 0 (?) 0 0 0 0 während 2¼ Monaten

56. * [F]* ? [F]? ? [F]? ? ? ? 0 0 0 0 „ 2¼ „

Vierzehn Injectionen.

57. * * * * + * ? + 0 * ? 0 0 0 während 2½ Monaten
⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙ · ○ · ·

Fünfzehn Injectionen.

58. * * * * * * ? ? * ? ? ? 0 0 0 während 2¼ Monaten
○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○

59. * * * * * * (?) (?) 0 * (?) 0 0 0 0 „ 2¼ „
○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ · · · · ·

Sechszehn Injectionen.

60. * ↑* * * * * + ? ? ? ? (?) 0 0 0 0 während 3 Monaten.
○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ · · · · ·

Siebzehn Injectionen.

61. ? * * * * * ↑+ + + ? ? 0 0 0 0 0 0 während 3¼ Monat.
○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ · · · · · ·

Achtzehn Injectionen.

62. ? * * * * * + * * * ? 0 0 0 0 0 0 0 während 3½ Mon.
○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○

Neunzehn Injectionen.

63. * $\overset{R}{*}$ * ? * ? * 0 ? ↑0 ↑? 0 ? 0 ? $\overset{F}{?}$ 0 0 0 während 8 Mon.

Einundzwanzig Injectionen.

64. * $\overset{R}{*}$ * * * ? * ? ? 0 $\overset{F}{?}$ $\overset{F}{?}$ 0 0 $\overset{F}{?}$ 0 $\overset{F}{?}$ 0 0 0 0 während 8 Mon.

65. * $\overset{R}{*}$ * * ? ? ? ? 0 $\overset{F}{?}$ $\overset{F}{?}$ 0 $\overset{F}{?}$ (?) 0 $\overset{F}{?}$ 0 0 0 0 0 „ 10 „

Dreiundzwanzig Injectionen.

66. + $\overset{R}{*}$ * * * * * * * * (?) (?) $\overset{F}{*}$? $\overset{F}{*}$? 0 0 (?) 0 0 0 *
während 10 Monaten.

Dieses Pferd wurde nach einigen Tagen getödtet, das Nasenseptum war etwas geschwellt mit einigen kleinen Erosionen; in den Lungen zahlreiche, derbe, miliare bis hanfkorngrosse Knötchen mit mörtelartigem oder kreidigem Centrum; wenige ähnliche Knötchen in Leber und Milz. In der linken Lungenspitze drei grössere Knoten mit käsigem oder mörtelartigem Centrum. Culturversuche und Injectionen an denselben waren negativ.

Dreiundvierzig Injectionen.

67. $\overset{R}{*}$ * * * * ? ? 0 * ? ?
$\overset{R}{(?)}$? (?) 0 (?) + (?) 0 0 0 0
0 0 0 ? (?) $\overset{F}{*}$ 0 0 0 $\overset{F}{+}$ 0
(?) 0 0 0 (?) 0 (?) 0 (?) 0
während 12 Monaten.

Dieses Pferd wurde zuletzt mit ansteigenden Dosen von Malleïn behandelt; namentlich die letzten 11 Injectionen wurden mit der gewöhnlichen von 0·03 begonnen und bis zu Dosen von über 0·8 gesteigert, ohne dass in Folge dessen eine typische Reaction aufgetreten wäre. Als hierauf zu einer normalen Dose zurückgegriffen wurde, reagirte das Pferd nicht mehr. Uebrigens ist es lehrreich zu sehen, wie in diesem Falle die Reaction vier Mal von Neuem einsetzte, um wieder allmählich zu verschwinden.

Ein anderes, zuletzt ebenfalls mit steigenden Dosen behandeltes Pferd hatte irgend welche verdächtige Symptome, so leichten schleimigen Nasenausfluss und links eine haselnussgrosse, bewegliche, indolente Drüse; dasselbe wurde während 11 Monaten 37 Mal injicirt mit folgendem Resultat:

68.	⁘ ○	† ○	0 ·	(?) ·	⁘ ○	0 ·	0 ·	0 ·	R 0 ·	(?) ·
	0 ○	0 ○	0 ○	0 ○	0 ○	0 ○	0 ○	↑(?) ⊙	↑0 ⊙	? ○
	0 ○	? ○	0 ○	0 ○	0 ○	0 ○	0 ○	0 ○	0 ○	0 ○
	0 ⊙	0 ⊙	0 ⊙	0 ⊙	0 ⊙	0 ⊙	0 ⊙			

Auch in diesem Falle setzt die Reaction mehrere Mal ein, um wieder zu verschwinden. Im Verlaufe der Injectionen verschwanden die verdächtigen Symptome, um bei der elften von Neuem aufzutreten und bei der zwanzigsten gänzlich zu verschwinden. Das Auftreten der verdächtigen Symptome war von keinerlei Reaction begleitet. In den letzten zehn Injectionen wurde die injicirte Dosis von der normalen Dose 0·035 allmählich bis auf 1·2 gesteigert, ohne dass Reaction aufgetreten wäre, wohl aber war in Folge der gesteigerten Dosen die Localreaction auffallend gross.

VI. Ueber die Reaction von Pferden, welche an anderen Krankheiten als an Rotz litten.

Es ist bekannt, dass auch anderweitige kranke Pferde gegen Malleïninjection nicht ganz unempfindlich sind, und sind namentlich in der Litteratur zahlreiche Fälle angegeben, wo Pferde, welche an Druse oder an Emphysem litten, ähnlich Reactionen aufweisen können wie rotzige Pferde. Doch wurde von den Autoren zugleich betont, dass in solchen Fällen die Reaction verschieden ist, namentlich nicht typisch verläuft und auch die locale Schwellung weniger charakteristisch ist. Nur Schindelka er-

wähnt, dass bei Emphysem Reactionen vorkommen, welche mit Rotz verwechselt werden können. Wir können einige aus den Erfahrungen der Malleïncommission von Tveatcoff zusammengestellte diesbezügliche Resultate mittheilen:

1. Ein Pferd mit Hydrothorax und subfebriler Temperatur gab ↑ ?. Nach dem Tode fand man chronische Pleuritis, aber an der Lungenoberfläche derbe miliare, zum Theil verkalkte Knötchen.

2. Ein Pferd mit muco-purulentem, grünlichem, fötidem Nasenausfluss zeigt Rasselgeräusche und amphorisches Athmen sowie an verschiedenen Stellen Lungendämpfung. Reactionen: 0 0 0. Culturen und Thierversuch mit dem Nasenausfluss waren negativ. Die Nasenschleimhaut ist etwas injicirt und pigmentirt; in der Pleura über 20 Liter klare Flüssigkeit; links ein mannskopfgrosser isolirter Herd mit faustgrosser Caverne von fötidem Eiter erfüllt und mit hämorrhagischer Wand; ein ähnlicher kleiner Herd rechts. Culturversuch negativ.

3. Ein Pferd mit Druse. Reaction: ↟ ↑0 (?). Culturversuch negativ; es liessen sich nur Streptokokken züchten.

4.	Ein Pferd mit Druse.	↑ ? (?).	Streptokokkennachweis.	Heilung.
5.	„ „ „ „	↑ ? (?).	„	„
6.	„ „ „ „	? ?	„	„
7.	„ „ „ „	↟ ↑(?) 0	„	„
8.	„ „ „ „	↑ $\overset{F}{?}$ 0	„	„
9.	„ „ „ „	$\overset{F}{?}$ (?) $\overset{F}{0}$	„	„
10.	„ „ „ „	↟ $\overset{F}{?}$	„	„
11.	„ „ „ „	?	„	„
12.	„ „ „ „	↟ $\overset{F}{?}$	„	„
13.	„ „ „ „ (Schwere Angina mit Asphyxie.)	↑ 0	„	„
14.	Ein Pferd mit Druse.	↟	„	„
15.	„ „ „ „	↟	„	„
16.	„ „ „ „	(?)	„	„

17. Muco-purulenter, geruchloser Nasenausfluss, links fluctuirende Drüse; kleine Narbe am Septum. Reaction: ↑ ?. Das Pferd wird getödtet. Am Nasenseptum keine Geschwüre noch Knoten, in den vergrösserten Drüsen eitrige Herde, in den Sinus Eiter, in Lunge und Leber kleine kreidige, fibro-calcare, leicht ausschälbare Knötchen. Keine Rotzbacillen.

18. Geringer, sero-mucöser Nasenausfluss und kleine indolente Drüse. Subfebrile Temperatur. Bedeutende Dämpfung in der Herzgegend. Reaction: ↑? ↑(?) ↑0 ↑? ↑? ↑0 ↑(?). Bei der Section keine Knötchen, keine Veränderungen in den Luftwegen. Pericarditis mit Degeneration des Herzmuskels, ausgebreitete carnificirte Lungenherde. Culturen und Thierversuch negativ.

19. Sero-mucöser, grünlicher, sehr fötider, bilateraler Nasenausfluss, indolente Drüse. Reaction: ↑0 ↑0 ↑0 ↑0 ↑0. Zahlreiche Nasenpolypen, einige perlartige, kalkig-fibröse Knötchen in der Leber.

20. Pferd mit Emphysem. Reaction: 0 (?).

21. „ „ „ „ ↑(?) 0.

In keinem unserer Fälle von anderen Krankheiten als Rotz wurde demnach eine irgendwie charakteristische Reaction gefunden. Auch nach den Nocard'schen Kriterien würde keines dieser Pferde als rotzig angesehen werden können. Namentlich auch fortgeschrittenes Emphysem gab keinerlei charakteristische Reaction. Diese Fälle zeigen zugleich, dass wir bei der Beurtheilung der Reaction streng auf gewisse Kriterien halten müssen, nachdem weder eine bedeutende Steigerung der Temperatur noch eine geringe locale Reaction zur Rotzdiagnose genügen. Besonders einige dieser Fälle sind auch deshalb interessant, weil bei denselben verdächtiger Nasenausfluss und Drüsenschwellung vorhanden waren, während aber weder die Reaction noch die Section Rotz nachweisen konnte. Auch fanden sich hier und da verkalkte Knötchen in Leber und Lunge, welche jedenfalls für Rotz nicht charakteristisch sind. Diese Fälle bestätigen zugleich die Berechtigung der Aufstellung der grossen und kleinen atypischen Reaction, welche allerdings auch bei Rotz häufig vorkommen, doch für denselben keineswegs charakteristisch sind. Es ist auch zu bemerken, dass in keinem dieser Fälle eine kleine typische Reaction gefunden wurde, obwohl nach unseren ausgebreiteten Erfahrungen auch dieselbe nicht für Rotz charakteristisch ist, indem eine solche namentlich bei gesunden Pferden hier und da gefunden wurde.

VII. Ueber den Einfluss des Malleïns auf den Rotzprocess und auf den Organismus der Pferde.

Bisher haben wir uns mit der Malleïnreaction als Mittel zur Erkennung der Rotzkrankheit befasst, doch zeigen unsere zahlreichen Versuche auch Erscheinungen, welche darauf hinweisen, dass das Malleïn den Organismus sowohl des gesunden als auch des kranken Pferdes in gewissem

Sinne beeinflusst und interessirt uns namentlich die Frage, ob und inwiefern diese specifische Substanz durch eine derartige Beeinflussung zur Bekämpfung der Rotzkrankheit verwerthet werden kann.

Zunächst haben wir behauptet, dass das Malleïn zur Heilung der Krankheit beitragen kann, dann wurde auch behauptet, dass eine Festigung oder eine Immunisirung der Pferde durch das Malleïn erzielt werden könne, und endlich behauptet Nocard, dass der Organismus des Pferdes durch wiederholte Malleïnimpfungen gegen die Wirkung dieses Productes abgestumpft werden könne. Was den ersten Punkt betrifft, haben wir in früheren Mittheilungen gezeigt, dass es in der That gelingt, durch steigende Malleïndosen die Heilung rotziger Meerschweinchen zu beschleunigen, oder wenigstens die Wirkung der Rotzbacillen abzuschwächen. Auch gelingt es, Thiere durch allmähliches Steigen der injicirten Dosen an vielfach tödtende Dosen der toxischen Substanz zu gewöhnen, ohne dass deshalb das Serum dieses Thieres eine bedeutendere antitoxische Wirkung erlange. Auch kann man Thiere gegen die Wirkung todter Bacillen festigen, ohne hierdurch ein baktericides Serum zu erlangen. Auch bei Pferden konnten wir beobachten, dass manifester Rotz nach Monaten eventuell nach Jahren abheilte, indem die Thiere während dieser Zeit mit gesteigerten Malleïndosen behandelt wurden. Allerdings ist es einigermaassen fraglich, ob diese Thiere nicht auch ohne Anwendung des Malleïns geheilt worden wären, nachdem in zahlreichen anderen Fällen, wie wir gesehen haben, rotzige Thiere zwar periodisch oder auch definitiv aufhören zu reagiren, ohne dass deshalb der Rotzprocess erlischt.

Allerdings wenn wir voraussetzen, dass jedes Pferd, welches reagirt, rotzig ist, und wenn wir dann sehen, wie fast alle diese Pferde nach mehreren Malleïninjectionen aufhören zu reagiren, könnten wir uns des Eindruckes nicht erwehren, dass das Malleïn zur Heilung des latenten Rotzes beigetragen habe. Wenn wir aber im Gegentheil annehmen, dass viele Pferde, welche reagiren, nicht rotzig sind wohl aber früher rotzig waren, so müssen wir das Aufhören der Reaction in anderer Weise interpretiren. Da wir nun in der That in zahlreichen Fällen nachgewiesen haben, dass die meisten reagirenden Pferde kein rotziges Material mehr beherbergen, so kann bei denselben von einer Heilung des Rotzes doch wohl nicht die Rede sein.

Anders verhält sich die Sache bei manifest rotzigen Pferden, welche längere Zeit malleïnisirt wurden. Wir müssen hier unterscheiden zwischen Injectionen mit der gewöhnlichen Dose und solchen mit steigenden Dosen. In der That konnten wir den Einfluss steigender Dosen auf die Reactionsempfindlichkeit und auf die Heilung des Rotzes feststellen. Unsere zahlreichen schon früher verzeichneten Fälle, ebenso jene von Semmer,

welcher bis zu Dosen von 100 grm aufstieg, zeigen, dass, wenn im Verlaufe der Impfungen ein Mal ein stärkeres Malleïn verwendet wird, die nächste Reaction gewöhnlich viel geringer ausfällt oder überhaupt nicht mehr auftritt. Ebenso haben wir gesehen, dass Pferde, welche Monate lang fortwährend reagirt haben, aufhören zu reagiren, wenn jenen steigende Dosen — bis zum 30fachen der gewesenen Dose — injicirt werden.

Es ist demnach gar nicht zu bezweifeln, dass in Folge steigender Injectionen die Empfindlichkeit gegen das Toxin bald aufgehoben wird, und fragt es sich nur, welchem Umstande dies zuzuschreiben ist, und namentlich ob zugleich mit dem Aufhören der Reaction der Rotzprocess günstig beeinflusst werde. Es ist dies allerdings a priori vorauszusetzen, nachdem das Malleïn ein giftiges Product des Rotzbacillus ist und nachdem der Organismus, welcher gegen dieses Product nicht mehr reagirt, auch gegen das identische, von den im Organismus sitzenden Rotzbacillen bereitete Product resistent geworden sein muss. Allerdings bleiben deswegen die Rotzbacillen im Organismus am Leben und können von Neuem zur Wirkung gelangen, nachdem diese erworbene Resistenz des Organismus wieder nachgelassen hat, was eben nicht lange Zeit beansprucht. Wir haben ja gesehen, dass es fast als Regel zu betrachten ist, dass Pferde nach einer Reihe von Injectionen allmählich aufhören zu reagiren und nach mehreren Wochen oder Monaten gegen Malleïn wieder empfindlich werden. Selbst bei entschieden manifest rotzigen Pferden findet sich diese Erscheinung.

Unzweifelhaft kann diese Erfahrung zur Rotztherapie verwerthet werden, doch dürfen wir an dieselbe nicht zu grosse Hoffnungen knüpfen, nachdem, wie wir gesehen haben, öfter rotzige Pferde nicht reagiren oder aufhören zu reagiren, ohne dass der Rotz Neigung zur Heilung zeigte. In manchen Fällen trat selbst bei Pferden, welche keine Rotzsymptome zeigten, der manifeste Rotz auf, nachdem die Malleïnreaction nicht mehr zu Stande kam. Es geht daraus hervor, dass im Rotzprocess wesentliche Schädigungen des Organismus vorkommen, auf welche die Malleïninjection keinen Einfluss auszuüben vermag, und ist es sicher, dass die Malleïninjection eben dann den Rotzprocess günstig beeinflussen kann, wenn derselbe langsam oder latent verläuft und wo der Rotzbacillus sich wahrscheinlich nur durch die Bereitung und Aufspeicherung gelöster Substanzen bethätigt.

Eine zweite wichtige Frage ist jene nach der Specifität der Reaction. Wenn in den meisten Fällen von Malleïnreaction sicher rotziges Material im Organismus der geimpften Thiere nicht nachgewiesen werden kann, so muss man sich doch fragen, was denn die Malleïnreaction bedeutet. Ich glaube mich nicht zu täuschen, wenn ich voraussetze, dass auch in diesen

Fällen Rotz vorhanden war und bloss noch Producte des Rotzbacillus bestehen, welche eben die Reaction auslösen. Allerdings wurde gezeigt, dass diese Substanzen nicht einfach Malleïn sind, indem Pferde, welchen vorher Malleïn eingespritzt wurde, dennoch auf eine weitere Malleïninjection nicht reagiren. Andererseits haben Semmer, Nocard und wir selbst gezeigt, dass schon mehrere Stunden oder Tage nach der Infection mit Rotzbacillen der Organismus auf Malleïn kräftig reagirt. Wenn die Reaction nun nicht durch die Rotzbacillen selbst ausgelöst wird, so ist es doch unzweifelhaft, dass zur Erregung desselben die Beeinflussung des Organismus durch die Rotzbacillen nöthig ist. Dass es sich hierbei um Stoffwechselproducte des Organismus handelt und nicht um die Bacillen selbst, zeigen die Versuche, nach welchen bei Hunderten von rotzigen Thieren die Reaction nicht auftritt.

Andererseits könnte man überhaupt an der Specificität der Malleïnreaction zweifeln, wie dies namentlich Schütz und mehrere andere deutsche Forscher thun. Dem gegenüber ist aber doch zu betonen, dass, wie wir gesehen haben, rotzige Pferde mit ganz geringen Ausnahmen — welch' letztere rationell erklärt werden können — reagiren, während andererseits gesunde Pferde ohne verdächtige Knötchen wohl nie reagiren. Allerdings wenn man so vorgeht wie Schütz, dass man die Temperatur einen Tag oder bloss $1^1/_2$ Tag misst und sich mit einer Temperaturerhöhung von 1 bis 1·5° begnügt, wenn man ferner die Localreaction gänzlich vernachlässigt, kommt man zu ganz unbrauchbaren Resultaten. Ebenso wenn man Pferde nicht vor der Injection vor Ermüdung, Witterungsunbilden und ungenügender Nahrungsaufnahme schützt.

Die Specificität der Reaction besteht eben in der Gesammtheit der oben angeführten Charaktere, und wäre es z. B. gefehlt, bloss die locale Reaction als specifisch anzusehen, indem wir eben in einer Reihe von Fällen nachgewiesen haben, dass grosse Dosen, etwa das 10 bis 20fache der gewöhnlichen Dosis, bei gesunden Pferden in der Regel keinerlei typische Temperaturerhöhung, wohl aber ganz bedeutende locale Schwellungen verursachen. Die locale Schwellung allein ist auch deswegen nicht charakteristisch, weil ja verschiedene reizende Stoffe oder allfällige Verunreinigungen des Malleïns oder der Spritze zu einer localen Schwellung führen kann.

Aus diesen Gründen sollten alle bisherigen Veröffentlichungen über Malleïn noch einmal controlirt werden, und müsste die Controle streng wissenschaftlich durchgeführt werden. Auch darf man in der Interpretirung der Reaction nicht schematisch vorgehen, nachdem eben der Mangel der Controle und das Schematisiren der Resultate auch Nocard irregeleitet haben, indem jede Malleïnreaction zunächst durch eine Wieder-

holung derselben controlirt werden muss, bevor wir uns über die Diagnose aussprechen können. Wenn Nocard diese Controle nicht versäumt hätte, hätte derselbe zunächst nicht behauptet, dass die eine Injection die andere beeinflusse, was nach unseren zahlreichen Versuchen durchaus nicht der Fall ist, wenn zwischen den beiden Injectionen ein Zeitraum von wenigstens 8 Tagen gelassen wird. Auch hätte dann Nocard nicht behauptet, dass das Aufhören der Reaction zugleich die Heilung des Rotzes bedeute. Es ist dies entschieden unrichtig, und müssen wir uns fragen, was eben das Aufhören der Reaction bedeutet.

Unsere Erfahrungen haben bewiesen, dass in der That, wie wir oben erwähnt haben, diese Erscheinung darauf hinweist, dass der Rotzprocess in ein Stadium getreten ist, in welchem nicht mehr Substanzen gebildet werden, die durch das Malleïn beeinflusst, die Reaction auslösen. In erster Linie werden solche Substanzen nicht gebildet, wenn der Rotz geheilt ist; dann aber auch in Fällen, in welchen der Rotzbacillus im Organismus zu einem gewissen Stillstand seiner Entwickelung gekommen ist, welcher wohl das baldige Absterben des Bacillus vermuthen lässt. Wenn wir nun mittels steigernden Malleïndosen jenen Zeitpunkt rasch herbeiführen können, bei welchem die Reaction nicht mehr ausgelöst wird, so beweist dies allerdings, dass durch diese Behandlung die Pferde der Heilung entgegengeführt werden, und ist nach meiner Ansicht deshalb die rationellste Behandlung rotzverdächtiger, typisch reagirender Thiere die Impfung mit steigenden Malleïndosen, bis auf die gewöhnliche Malleïndose keine Reaction mehr erfolgt, was gewöhnlich nach 1 bis 2 Monaten erreicht wird. Der nunmehrige Mangel an Reaction bedeutet aber noch nicht die definitive Heilung, nachdem in einigen Fällen nach Aufhören der Reaction dieselbe nach kurzer Zeit wieder aufgetreten war.

Wir müssen im Allgemeinen einen periodischen Verlauf der chronischen latenten Rotzkrankheit des Pferdes annehmen, indem in der Regel Pferde, welche Jahre lang malleïnisirt worden, periodisch aufhören zu reagiren, um öfter von Neuem gegen Malleïn empfindlich zu werden.

Die Frage, ob wiederholte Impfungen mit der gewöhnlichen Malleïndose einen gewissen Grad von Immunität herbeiführen könne, muss auf Grund unserer zahlreichen Versuche entschieden verneint werden, und wollen wir noch einige Beispiele anführen, wo Pferde, welche keinerlei Symptome aufwiesen, kürze oder längere Zeit nach der wiederholten Malleïnisirung an Rotz zu Grunde gingen, nachdem sie vorher zu reagiren aufgehört hatten.

Es tritt manifester Rotz auf:

1.	Während	6	Monaten	✻ ✻ ✻ 0	nach	$1^1/_2$ Monaten.
2.	„	6	„	✻ ↑? ↑ ✻ ↑? 0 ○ · · ○ ·	„	$1^1/_2$ „
3.	„	6	„	↑+ ↑0 ↑+ ↑0 ○ ○ ○ ○	„	1 „
4.	„	3	„	? + ?	„	2 „
5.	„	3	„	✻ ↑? +	„	2 „
6.	„	3	„	✻ ↑? ↓+	„	2 „
7.	„	3	„	✻ ? 0	„	4 „
8.	„	2	„	✻ 0 0	„	2 „
9.	„	2	„	✻ ✻ ↑? ○ ○ ○	„	3 „
10.	„	2	„	✻ ↑✻ ↑ 0 ○ ○	„	1 „
11.	„	11	„	? 0 0 ↑? ↑0 ✻ 0	„	1 „
12.	„	11	„	✻ ✻ ✻ ✻ ↑✻ ↑? 0	„	$1^1/_2$ „

Bei Pferden, welche nicht aufgehört haben zu reagiren, tritt ebenfalls häufig nach Monaten manifester Rotz auf.

Es tritt manifester Rotz auf:

13.	Während	3	Monaten	+✻ ↑?	nach	3 Monaten.
14.	„	3	„	✻ ↑✻ ↑✻ ○ ○ ○	„	$1^1/_2$ „
15.	„	7	„	0 + +✻ ✻	„	1 „
16.	„	9	„	✻ ✻ ✻ ✻ ✻	„	1 „
17.	„	6	„	? ? + (?)— ✻	„	3 „

Die schwierigste Frage in Betreff der Specificität der Malleïnreaction ist jene der Natur der Knötchen, welche bei reagirenden Pferden gefunden werden. In dieser Beziehung sind eben die Versuche Schütz' nicht zu verwerthen, nachdem, wie wir gesehen haben, dieser hochgeschätzte Forscher nicht derart vorgeht, um eine typische Reaction zu erzielen, so dass derselbe nicht behaupten kann, dass ein Pferd, welches reagirt, rotzige oder nicht rotzige Knoten beherbergt. Es ist nicht genug, dass manche Pferde über 40° C. zeigen, um von einer Reaction sprechen zu können. Wenn die Temperaturerhöhung nicht auch nächsten Tages auftritt, so handelt es sich eben um eine atypische Reaction, welche weder für noch gegen

Rotz beweist. Wir glauben eben durch die Feststellung der atypischen Reaction bei vielen Rotzfällen die Grenzen der Specificität der Malleïnreaction scharf gezogen zu haben. Wenn also Schütz keine typische Reaction erzielt, so ist auch die Untersuchung der Knötchen nicht im Stande, den Werth der Malleïnreaction zu prüfen. Erst in zweiter Linie ist auch jener Einwand gegen die Versuche Schütz' gültig, dass dieser Autor die gefundenen Knötchen in der Regel nicht auf ihre Virulenz geprüft hat. Wir müssen demnach in der Beurtheilung der Knötchen von Schütz' Untersuchungen absehen und uns an das halten, was wir selbst und Nocard in Erfahrung bringen konnten.

Nocard sowie wir selbst konnten in den meisten Fällen constatiren, dass nach Rotzinfection die Lunge und die Leber gewöhnlich von zahlreichen Knötchen durchsetzt sind, während bei gesunden Pferden in der Minderheit der Fälle wenige Knötchen gefunden werden, so dass es ganz unzweifelhaft ist, dass der allergrösste Theil dieser Knötchen rotzigen Ursprungs ist. Da wir nun ferner nachweisen konnten, dass bei rotzigen Thieren die Knötchen mit der Zeit verkalken, und dass man bei geheilten Thieren immer noch zahlreiche Knötchen in der Lunge findet, welche aber zum grossen Theil verkalkt sind, während bei gesunden Pferden nur wenige verkalkte Knötchen vorkommen, so geht es wohl nicht an zu sagen, dass die rotzigen Knötchen nicht verkalken, und dass demnach die verkalkten Knötchen nicht rotziger Natur sind. Wir besitzen aber auch ausserdem den positiven Nachweis des Gegentheils, indem wir ja alle Uebergänge zwischen käsigen, käsig-kalkigen undk reidigen Knötchen verfolgen können und indem zum Theil verkalkte Knötchen virulentes Material beherbergen können. Allerdings sind viele verkalkte Knötchen nicht rotziger Natur, wie dies die schönen Untersuchungen von Schütz und Olt nachgewiesen haben.

Das Verhältniss der Knötchen zur Malleïnreaction ist demnach unseren Untersuchungen gemäss das folgende: Wenn bei anscheinend gesunden Pferden typische Reaction auftritt, so entspricht dieselbe entweder einem versteckten Rotz der oberen Luftwege oder der Gegenwart von Lungenknötchen rotzigen Ursprungs. Im ersteren Falle besteht gewöhnlich noch subfebrile Temperatur. In allen diesen Fällen kann auch die typische Reaction mit atypischer abwechseln, wobei aber eben nur die typische Reaction als für Rotz charakteristisch angesehen werden muss. Manchmal ist die locale Schwellung unbedeutend, was aber nicht gegen die Rotzdiagnose verwerthet werden darf, indem in der Regel bei der Controlinjection eine grössere locale Reaction auftritt und indem die Grösse der localen Reaction nach der Individualität verschieden ist.

Bei allen Pferden, welche typisch reagiren, findet man nur entweder

versteckte Rotzgeschwüre oder gar zahlreiche Knötchen in Lunge und Leber, welche wohl zum Theil nicht rotziger Natur, zum grossen Theil wohl auch verkalkt und gänzlich inactiv sein können; neben denselben finden sich aber immer Knötchen, welche lebendes actives Gewebe beherbergen, welche Knötchen zwar nicht immer histologisch als Rotzknötchen gekennzeichnet sind, von welchen aber keineswegs behauptet werden kann, dass sie einer anderen Ursache als dem Rotz ihren Ursprung verdanken. In etwa 20 Procent der Fälle kann selbst die rotzige Natur derartiger Knötchen durch Cultur und Experiment nachgewiesen werden. In jenen Fällen nun, wo dies trotz sorgfältigster Untersuchung nicht möglich ist, können wir einstweilen voraussetzen, dass die Knötchen kein virulentes Material, also keine lebenden Bacillen beherbergen, wohl aber Substanzen, welche, vom Rotzbacillus herrührend, die Reaction auslösen.

VIII. Schlussbemerkungen.

Aus unseren zahlreichen Untersuchungen geht hervor, dass:

1. Die aus Rotzculturen, nach Art der Tuberculinbereitung oder durch Filtriren oder Präcipitiren der Culturen extrahirten mehr oder minder toxischen Substanzen bei rotzkranken Thieren eine specifische Reaction auszulösen vermögen, indem bei unserem Material von über 7000 Pferden über 90 Procent der manifest rotzkranken Pferde, über 30 Procent der Pferde, welche mit rotzkranken Pferden in Berührung waren, aber bloss 1 bis 2 Proc. der nicht inficirten Pferdebestände reagiren.

2. Diese specifische Wirkung manifestirt sich aber nur dann sicher, wenn bei nicht fiebernden, ausgeruhten, genügend genährten und gegen Witterungsunbilden geschützten Pferden bestimmte Mengen der Substanz unter bestimmten Bedingungen injicirt werden, indem nur eine bestimmte Temperaturcurve, steiler Temperaturaufstieg 6 bis 8 Stunden nach der Injection, wenigstens um 2 Grade und über 40°, Wiederholung der Temperatur am nächsten Tage, in Verbindung mit einer ausgesprochenen localen Reaction als charakteristisch betrachtet werden kann. Der Umstand, dass bei öfteren Injectionen dieser Typus mit nicht charakteristischen Atypien, manchmal selbst mit Reactionslosigkeit abwechselt, darf uns bei der Beurtheilung der Reaction nicht stören.

3. Vorhergehende subfebrile Temperaturen oder Reactionen stören nicht die Resultate der späteren Injectionen, unter der

Bedingung, dass eine Pause, etwa von 8 Tagen, zwischen den Injectionen eingehalten wurde. Das Aufhören der Reactionen nach öfteren Injectionen bedeutet nicht in allen Fällen die Heilung der Krankheit, indem die Reaction häufig von Neuem einsetzt, oder indem nach Aufhören der Reaction nicht selten manifester Rotz auftritt. Jedenfalls aber zeigt das Aufhören der Reaction eine Tendenz zur Heilung und kann letztere Erscheinung durch die systematische Injection mit steigernden Dosen von Mallein bedeutend beschleunigt werden.

4. Bei Pferden, welche typisch reagiren, findet man entweder manifesten Rotz oder versteckten Rotz der oberen Luftwege oder bloss Knötchen in der Lunge, oft auch in Leber und Milz.

5. Diese Knötchen kommen nach unseren Erfahrungen zum grossen Theil durch Eindringen der Bacillen in die Luftwege zu Stande, indem die kleinsten Bronchien durch rotziges Secret durchbrochen werden und zu einem miliaren oder grösseren Knötchen Veranlassung geben. Erst in zweiter Linie kommt die Infection durch den Intestinaltractus in Betracht, indem bei letzterem Infectionsmodus hauptsächlich die benachbarten Lymphdrüsen und die Bauchorgane ergriffen werden. Die miliaren Lungenknötchen sind demnach manchmal auch embolischer Natur; diese kleinen Rotzknötchen können verkalken. Besonders jene Knötchen, welche man als parenchymatöse bezeichnen kann, erreichen oft eine bedeutendere Grösse, indem die Knötchen verschmelzen und immer neue Gruppen von Alveolen ergriffen werden. Oft handelt es sich um kleine, nicht umschriebene Herde oder um Infarcte. Histologisch erkennt man an den frischen Knoten eigenthümliche Zell- und Kernveränderungen, namentlich Hyperchromatose und beerenbüschelartige Kernfragmentation der angehäuften polynucleären Leukocyten, fadenförmige Entartung der Kerne, Vacuolisirung des Protoplasma, Bildung von eigenthümlichen glasigen Massen und Hämorrhagieen in der Umgebung des Knötchens. Namentlich an der Peripherie der Knötchen wuchern die fixen Elemente, besonders Gefässwandung, Alveolarepithelien, es entstehen Riesenzellen als Ausdruck einer Tendenz zur Regeneration des Lungenparenchyms und neue Gefässe. Indem die Knötchen kalkig entarten können, verschwinden allmählich auch die zahlreichen Kernfragmente

und entsteht an der Peripherie derbes schwieliges Gewebe. Die sehr alten, gewöhnlich fibrösen oder kalkig entarteten Knötchen rotzigen Ursprungs lassen oft ihre Natur nicht mehr erkennen und finden sich häufig auch bei Pferden, welche nicht mehr reagiren. Allerdings findet man häufig bei Pferden, welche reagiren, Knötchen, die bloss mörtelartiges Material im Centrum beherbergen, deren Wandung aber aus einem proliterirten und lebensfähigen Gewebe besteht, in welchem Rotzbacillen weder durch das Mikroskop, noch durch Cultur oder Experiment nachgewiesen werden können. Ebenso wenig finden sich aber hier andere Parasiten oder überhaupt Zeichen dafür, dass diese Knötchen nicht rotzigen Ursprungs seien. Dass die verkalkten Knötchen in der Regel nicht virulent sind, ist selbstverständlich, da es sich um sehr alte Processe handelt; aber schon die Thatsache, dass rotzige Pferde gewöhnlich zahllose Knötchen beherbergen, während gesunde Pferde gewöhlich keine oder nur vereinzelte verkalkte Knötchen aufweisen, deren Natur als Wurmknötchen häufig erkannt wird, dann der Nachweis von Uebergängen zwischen verkalkten und nicht verkalkten Knötchen weisen auf die rotzige Natur eines grossen Theils derselben hin. Der Einwand von Schütz, dass die verkalkten Knötchen nicht rotziger Natur seien, da der Rotzbacillus die Verkalkung verhindert, ist ebenso wenig gerechtfertigt und keinesfalls für diese Knötchen zu verwerthen, in welchen eben keine Bacillen mehr vorhanden sind.

6. Ausser den Knötchen rotzigen Ursprungs finden sich sowohl bei gesunden wie bei rotzigen Thieren nicht selten solche, welche durch thierische Parasiten oder durch Thrombosen, Embolien u. s. w. erzeugt werden, welche gewöhnlich leicht von rotzigen oder rotzverdächtigen Knötchen unterschieden werden können. Endlich konnten wir ähnliche embolische und parenchymatöse Knötchen durch Infection von Pferden mittels eines knötchenbildenden dem Rotzbacillus einigermaassen ähnlichen Bacillus hervorbringen.

7. Als Basis unseres Verfahrens zur Bekämpfung des Rotzes können folgende beiläufigen Daten dienen. In einem inficirten Stalle finden sich neben 1 bis 2 manifest rotzigen Pferden und etwa ebenso vielen mit bloss verdächtigen Symptomen 20 bis 30 Procent anscheinend gesunde Pferde, welche typisch reagiren. Ebenso reagiren über 90 Procent der bloss

rotzverdächtigen Thiere. Von den reagirenden Pferden haben etwa 5 bis 10 Proc. versteckte aber offene infectiöse Veränderungen in den oberen Luftwegen, während über 90 Procent latente nicht mit der Aussenwelt communicirende Veränderungen aufweisen. 20 bis 30 Procent der anscheinend gesunden Pferden haben ausserdem kleine typische oder atypische Reactionen, welche erst nach wiederholten Injectionen in typische Reaction oder in Reactionslosigkeit übergehen und dann klassirt werden können. Mit der Zeit tritt nun bei etwa 5 Proc. dieser letzteren Pferde manifester Rotz auf, während über 90 Procent überhaupt nicht manifest rotzig wird. Bei über 80 Procent der reagirenden Pferde verschwindet die Reactionsempfindlichkeit der Pferde nach 2 bis 3 Monaten und tritt bei den nicht mehr reagirenden Pferden der manifeste Rotz nur selten etwa in 0·2 Procent der Fälle auf, während jene Pferde, welche lange Zeit hindurch reagiren, in etwa 10 Procent an manifestem Rotz erkranken. Wir verweisen hier noch auf die zahlreichen statistischen Angaben im Text, welche, wenn auch weniger unmittelbar verwerthbar, doch zur Orientirung über das erreichbare Resultat wichtig sind.

8. Auf Grund unserer Untersuchungen empfehlen wir einstweilen folgendes Vorgehen zum Zwecke der Bekämpfung des Rotzes: Vernichtung der manifest rotzigen Pferde, zweimalige Malleïnisirung in Zwischenräumen von 1 bis 2 Wochen behufs Sicherung der Reaction, Separiren der Pferde, welche wenigstens einmal typisch reagirt haben, in dem gründlich desinficirten Stall, sowie Entfernung und Freigeben der nicht reagirenden oder bloss atypisch reagirenden Pferde aus demselben, Vernichtung jener Pferde, welche irgend ein verdächtiges Symptom und typische Reaction gezeigt haben, individuelle Trinkgefässe und Utensilien für die reagirenden Pferde, welche bloss unter bestimmten Vorsichtsmaassregeln zur Arbeit benutzt werden dürfen, systematische Malleïnisirung dieser Pferde mit steigenden Dosen während eines Monats; nach Verlauf des zweiten Monats zwei Malleïnisirungen mit der gewöhnlichen Dosis; jene Pferde, welche noch typisch reagiren, werden entweder getödtet oder, wenn zu zahlreich oder werthvoll, von Neuem behandelt und nach einem weiteren Monat auf ihre Reaction hin untersucht, worauf die Tödtung der dennoch reagirenden Pferde angezeigt ist. Werthvollere Pferde

kann man allerdings noch längere Zeit in Behandlung lassen, nachdem diese Pferde, wie wir gesehen haben, in den meisten Fällen keinerlei offene rotzige Veränderungen aufweisen. Die Pferde können ohne grosse Ansteckungsgefahr um so mehr in Beobachtung bleiben, als die reagirenden und, ohne klinische Symptome aufzuweisen, getödteten Pferde in etwa 80 Procent kein infectiöses Material mehr erkennen lassen.

Litteratur-Verzeichniss.

A. Babes, De la morvine. *La Roumaine médicale.* 1894. T. II. p. 1.

A. Babes et A. Motoc, Sur les substances chimiques produites par le bacille de la morve. *Annales de l'Institut de Pathol. et de Bacteriol.* II. Bukarest 1892.

V. Babes, Observations sur la morve. *Archives de médecine expérimentale et d'anatomie pathologique.* 1891. T. III. p. 619. — *Annales de l'Institut de Pathologie et de Bacteriologie.* III. p. 18. Bukarest 1892.

Derselbe, De la morve larvée et latente. *Semaine médicale.* 1894. p. 373. — *Annales de l'Institut de Pathologie et de Bacteriologie.* VI. p. 203. Bukarest 1898.

V. Babes u. N. Kalindero, Zwei Fälle von mehrere Wochen lang andauernder Allgemeinreaction bei Leprösen nach einmaliger Einspritzung von 0·8 mg Tuberculin, nebst Bemerkungen über die Wirkungen des Tuberculins. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1891. S. 509.

V. Babes, P. Riegler et C. Podasca, Sur les toxines de la morve et leur rapport avec les bacilles moveux et le sérum antimorveux. *Annales de l'Institut de Pathologie et de Bacteriologie.* VI. p. 211. Bukarest 1898.

V. Babes et C. Starcovici, Diagnostic de la morve. *Ebenda.* I. p. 305. Bukarest 1889.

Bromberg, *Arbeiten aus dem Veterinär-Institut zu Charkow.* 1891. S. 619. (Russisch.)

Foth, Ueber Malleïn. — Untersuchungen über die wirksamen Bestandtheile des Malleïns. *Zeitschrift für Veterinärkunde.* 1892. Bd. IV. S. 113 u. 435.

Gutzeit, Ueber Malleïn. *Ebenda.* 1892. S. 113.

Helman, C. J., Ueber klinisch-experimentelle Methoden zur Diagnose des Rotzes. *Thierärztlicher Vereinsbote.* 1891. (Russisch.)

Hutyra, Malleïnimpfungen. *Ungar. Veterinärbericht.* 1897. S. 129.

Jonescu, Jon N., *Cercetari experimentale auspra causei insucceselor in maleïna sau morvina in diagnosticul rapciugei.* Bukarest 1900.

Junot et Leblanc, La malléine. *Rec. de méd. vét.* 1896. Nr. 8. p. 212.

Kalning, O., Diagnose des Rotzes. *Archiv der Veterinärwissenschaften.* I. 1891. (Russisch.)

Kresling, Sur la préparation et la composition de la malléine. *Archives des sciences biologiques publiées par l'Institut Impérial de méd. expérim. à St. Petersburg.* 1892. I. p. 711.

Leclainche, Rech. sur la malléine. *Revue vétér.* 1892. p. 465.

Motoc, Achil M., *Contributiune la studiul chimico-biologic si experimental asupra produselor microbiene solubile, patogene si vaccinale, ale morvei si turbărei.* Bukarest 1891.

Nocard, Sur les tubercules translucides des poumons des chevaux morveux. *Rec. de méd. vét.* 1896. Nr. 6. p. 196.

Derselbe, Application de la malléine au diagnostic de la morve latente. *Ebenda.* 1892. Nr. 8. p. 209.

Derselbe, Diagnostic de la morve par la malléine. *Bull. Rec.* 1892. T. VII und IX. Nr. 10.

Derselbe, Diagnostic de la morve. *Compt. rend. du Congrès internation. de Moscou.* 1895.

Derselbe, *Lehrbuch.* 1898.

Olt, Die kalkig-fibrösen Knötchen in den Lungen und der Leber des Pferdes. *Berliner therap. Archiv.* 1895. Bd. XXI. S. 352.

Ossikowski, Zur Frage über den diagnost. und therapeutischen Werth des Malleïns. *Petersburger Archiv f. Veterinärwissenschaften.* 1896. S. 426.

Pearson, Ueber die Wirkung des Malleïns. *Zeitschrift für Veterinärkunde.* 1891. — *The Journal of comparative med. and veter. Archiv.* 1892.

Preusse, Versuche mit Rotzlymphe. *Berliner thierärztl. Wochenschrift.* 1891.

Roux et Chamberland, Immunité contre la septicémie conférée par des substances solubles. *Annales de l'Institut Pasteur.* T. I.

Schindelka, *Zeitschrift f. wissenschaftl. österreichische Veterinärkunde.* 1894.

Schütz, Zur Lehre vom Rotze. *Archiv für wissenschaft. Thierheilkunde.* 1898.

Derselbe, Malleïnversuche. *Ebenda.* 1898. S. 73.

Semmer, Malleïn und Tuberculin. *Oesterr. Monatsschrift für Thierheilkunde.* 1898. S. 145.

E. Semmer u. A. Wladimirow, Sur la valeur diagnostique des injections de malléine. *Archives des sciences biologiques publiées par l'Institut Impérial de méd. expér. à St Petersburg.* 1892. I. p. 745,

E. A. de Schweinitz and L. F. Kilborne, The use of malleïn for the diagnosis of glanders in horses, and experiments with au albumose extrected from cultures of the bacillus malleus. *Americ. Vet. Rec.* Vol. XVI. p. 439. — *Journ. of comp. med. and veter. archiv.* 1892. p. 643.

Tveatcoff, Russi, *Maleina si morvina in casuri de rapciuga.* Bukarest 1895.

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. III u. IV.)

Tafel III.

Fig. 1. Pferd, welches auf Malleïn nicht reagirt hatte. Dasselbe ging nach Einspritzung grosser Dosen von Antidiphtherieserum zu Grunde. Enartete Leber. Alkohol, Saffranin. Vergr. 100. *cn* centrale Nekrose der Leberläppchen. *K* Knötchen von einer Zone von (*gr*) Granulationsgewebe umgeben. Im Innern der fibrösen Kapsel eine centrale (*c*) z. Th. verkalkte Masse mit den Anzeichen der Structur eines Nematoden, welcher sich wahrscheinlich geschlängelt durch alle drei Knötchen erstreckt.

Fig. 2. Lunge von confluirenden Knötchen und Infiltraten durchsetzt. (Fortwährend auf Malleïn reagirendes Pferd, welches endlich getödtet wurde. Lebendes Rotzvirus konnte nicht nachgewiesen werden, wohl aber ältere Nasengeschwüre, sowie zahlreiche durchscheinende und mörtelig-zerfallende Knötchen und Infiltrate der Lunge.) Hämatoxylin-Eosin. Vergr. 100.

I. Durchscheinendes, im Centrum nekrotisches (*n*) u. verkalkendes (*K*) Knötchen mit Andeutung von Alveolarrestern. *sc* sclerotische Zone. *W* zellreiche Wucherungszone. *ha* hämorrhagische und hyperämische Zone.

II. *K* Subpleurales Knötchen im Centrum verkalkt. *n* nekrotische Zone. *sc* sclerotische Zone. *z* zellreiche Zone. *hy* hyperämische Zone. *gs* Gefässsclerose. *i* interstitielle zellreiche Infiltration. *i'* interstitielle Sclerose.

a erweiterte Alveolen. *a'* mit albumöser granulirter Masse erfüllte Alveolen. *B* Bronchus mit Schleimpfröpfen in und zwischen den Epithelien. *p* peribronchiale Wucherung.

Tafel IV.

Fig. 3. Miliares Knötchen eines Pferdes mit Rotzsymptomen, typischer Reaction und zahlreichen miliaren Knötchen in der Lunge. Positive Culturen und Thierversuche. Hämatoxylin-Eosin. Schwache Vergrösserung. *C* Centrum des Knötchens aus einem Eiterpfropf bestehend, welcher den kleinen Bronchus *B'* erweitert und durchbrochen hat. *a* alveoläre Structur des Knötchens, z. Th. mit wuchernden Alveolarepithelien und Riesenzellen *R*. *f* folliculäre Knötchen. *g* erweiterte Gefässe. *Z* äussere zellreiche Zone. *ha* hämorrhagische Zone. *h* glasig-enartetes Gewebe in der hämorrhagischen Zone. *a* Alveolen. *B* Bronchus von wucherndem Gewebe (*p*) umgeben.

Fig. 4. Aus demselben Falle, ein den Bronchus durchbrechender Eiterpfropf bei stärkerer Vergrösserung. (Die Bacillen nach einem Methylenblau-Tannin-Präparat eingezeichnet.) Der Eiterpfropf besteht aus ovalen blassen Kernen, aus beerenbüschelartig entarteten Leukocytenkernen (*e*), aus granulirter Masse und wenigen Bacillen (*b*). Auch findet man hier öfter blasse, gebogene, homogene Massen (*f*), welche allenfalls als Bruchtheile von Würmern interpretirt werden könnten, während aber die Knötchenbildung offenbar vom rotzigen Eiterpfropfen ausgeht. Das Bronchialepithel (*E*) zeigt Anfangs noch Flimmerbelag, ist von Beerenbüschelzellen durchsetzt, wird dann niedrig, desquamirt (*E'*) und verschwindet endlich, indem der vergrösserte Eiterpfropf sich innig mit dem gewucherten peribronchialen Gewebe (*wp*) vermengt, wobei hier Wucherung der Gefässwandung (*g*) und Hämorrhagieen auftreten (*h a*). Die Epithelien der benachbarten Alveolen wuchern (Karyokinese) (*wa*) und im Innern derselben treten Riesenzellen auf, welche oft fragmentirte oder fädig entartete Leukocytenkerne enthalten.

[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten zu Berlin.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. R. Koch.)

Ueber ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbacillen.

Von

Stabsarzt Dr. v. **Drigalski**, und Dr. **H. Conradi**.
Assistenten des Instituts.

I. Die theoretischen Grundlagen des Verfahrens.

Der Nachweis der Typhusbacillen war bisher selbst bei klinisch sichergestellten Typhusfällen mit solchen Schwierigkeiten verknüpft, dass eine praktische Nutzanwendung der vorliegenden Methoden ausbleiben musste. Das wesentlichste Hinderniss bildete die Unterscheidung des Bac. typhi von den Angehörigen der ihm nahe verwandten Coligruppe. Wohl verfügen wir über Methoden, welche die Erkennung ihrer Reinculturen ermöglichen; aber die weit verwickeltere Frage, auf ein und derselben Platte wenige Typhusbacillen unter zahlreichen Colicolonieen schnell und leicht herauszufinden, harrte noch ihrer Lösung. In dem Bestreben, die Colibacillen in ihrem Wachsthum zu schädigen, die Typhusbacillen dagegen zu fördern, haben eine Reihe von Autoren dem Nährsubstrat Antiseptica hinzugefügt und lediglich bewirkt, dass deren Zusatz gerade die Entwickelung des Bac. typhi aufhielt. (Chantemesse und Widal, Thoinot, Parietti, Rawitsch-Stcherba, Thoinot und Brouardel u. A.) Ein ähnliches Ergebniss lieferten ferner die Versuche von Holz, Uffelmann, Elsner u. A., welche eine grobsinnliche, morphologische Unterscheidung der beiden Bakterienarten herbeiführen wollten. Die Nachprüfung dieser Methoden hat zur Genüge gezeigt, dass sie nicht nur den Bac. typhi im Wachsthum hemmen, sondern sogar eine ansehnliche Zahl von Keimen von vornherein vernichten, dass sie mit anderen Worten das „Anwachsen" wie „Auswachsen" der Typhuscolonieen auf

das Empfindlichste schädigen. Was schliesslich die Methode von Piorkowski angeht, so sind über ihre Leistungsfähigkeit die Meinungen recht getheilt.[1] Vor allem berücksichtigt sie nicht genügend die Forderung nach constanter Zusammensetzung des Nährbodens, und es fehlt daher jede Möglichkeit, vergleichbare Resultate zu erhalten.

Wir versuchten nun, auf einem anderen Wege vorwärts zu kommen, und zwar die Trennung der Typhus- von den Colibacillen auf Grund des verschiedenen Gährvermögens beider Bakterienarten durchzuführen, immer darauf bedacht, keine Wachsthumshemmung des Bac. typhi zu bewirken, ihm vielmehr die günstigsten Lebensbedingungen vor allen anderen Bakterienarten zu schaffen. Chantemesse und Widal (2), J. Petruschky (3), Th. Smith (4), R. Wurtz (5), Péré (6), Germano und Maurea (7), Capaldi und Proskauer (8) u. A. haben bereits auf die Unterschiede aufmerksam gemacht, welche bezüglich des Abbaues der Kohlehydrate zwischen Bac. coli und Bac. typhi bestehen. Insbesondere wurde von Chantemesse und Widal, R. Wurtz und Th. Smith auf die Vergährung des Milchzuckers durch die Colibacillen hingewiesen, eine Eigenschaft, welche dem Bac. typhi nach ihren Untersuchungen abgeht. Auf Grund dieses differenten Verhaltens der beiden Bakterienarten haben bereits R. Wurtz[2] und später Kashida (9) ein Verfahren zur Unterscheidung ihrer Reinculturen ausgearbeitet. Nach dem erstgenannten Autor wird ein mit Lackmustinctur und Milchzucker versetzter, schwach alkalischer Nähragar bei Ausstrich von Colibacillen geröthet, während die mit Typhusbacillen geimpfte Probe ihre blaue Farbe nicht verändert. Auch Kashida stellte ähnliche Versuche an, ohne jedoch über die seinen Beobachtungen zu Grunde liegenden Thatsachen in's Klare gekommen zu sein. Wenn er nämlich einem Eiweiss enthaltenden Nähragar 30 Procent Lackmuslösung, 2 Procent Milchzucker und 1 Procent Harnstoff hinzufügte, so wurde der Nährboden durch eine Reincultur von Colibacillen nach 18 Stunden roth, nach 24 Stunden blau gefärbt, während Typhusbacillen noch nach 4 bis 5 Tagen „farblos“ wuchsen. Schliesslich hat noch Mathews (10) das eben erwähnte Verfahren von R. Wurtz, welches nur die Identificirung von Reinculturen bezweckte, auch zur praktischen Anwendung bei der Untersuchung von typhusverdächtigem Wasser empfohlen. Mathews fügt 1 ^{ccm} des zu untersuchenden Wassers direct zu dem Lackmus-Milchzucker-Agar hinzu und giesst dann in der üblichen Weise Platten. Sämmtliche blauen Colonieen, die nach 14stündigem

---

[1] Vgl. Hayaschikawa (1), dort findet sich eine Zusammenstellung der bezüglichen Litteratur.

[2] A. a. O.

Aufenthalt im Brütschrank bei 37·5° typhusähnlich aussahen, wurden abgeimpft und zur Feststellung der Diagnose auf verschiedene Nährmedien übertragen. Lösener (11) konnte sich bei Nachprüfung von den Vorzügen dieser Methode nicht überzeugen, sie gerieth in Vergessenheit und wurde uns erst nach Abschluss unserer Versuche bekannt. Es wird sich später Gelegenheit finden, auf die Versuche von Mathews zurückzukommen und die Fehlerquellen darzulegen, welche die praktische Verwerthung seines Verfahrens von vornherein vereitelten.

Unsere nächste Aufgabe bestand darin, das Gährvermögen von Bac. typhi und coli einer vergleichenden Betrachtung zu unterziehen. Von Kohlehydraten wurden geprüft:

1. Monosaccharide: Von Hexosen: Glucose, Fructose und Galactose; ferner Mannit und Dulcit. Von Pentosen: Arabinose, Xylose und Rhamnose.

2. Disaccharide: Rohrzucker, Maltose, Milchzucker.

3. Polysaccharide: Amylum, Inulin und Dextrin.

Diese Substanzen wurden in einem Verhältniss von 1:100 zu bereits sterilisirtem, mit Lackmustinctur versetztem Nähragar hinzugefügt und nur 5 bis 10 Minuten lang zur Vermeidung von Zersetzungen und hydrolytischen Spaltungen im strömenden Dampf sterilisirt. Der Nähragar — der übliche Fleischwasser-Pepton-Agar von schwach alkalischer Reaction — war durch Zusatz von 15 Procent Lackmustinctur blau gefärbt. Der mit dem betreffenden Kohlehydrat versetzte, sterile Lackmusagar wurde nun in kleinen Schalen zu Platten ausgegossen und mit Impfstrichen von Bac. coli und typhi versehen. Die mehrmals wiederholten Versuchsergebnisse sind in nebenstehender Tabelle zusammengestellt (s. S. 286).

Unter den gewählten Versuchsbedingungen trat besonders deutlich das constante Verhalten der verschiedenen geprüften Bakterienstämme gegenüber dem Milchzucker hervor: Während die sämmtlichen echten Coliarten bei Oberflächenwachsthum und ungehindertem Luftzutritt Rothfärbung bei Zusatz von Milchzucker gaben, war bei sämmtlichen Typhusculturen Blaufärbung zu constatiren. (Es wurden sieben verschiedene Typhusstämme der Institutssammlung geprüft.) Nicht so übereinstimmend waren die übrigen Resultate: Gegen Mannit verhielten sich die Oberflächenculturen wechselnd, und es hat den Anschein, als ob die von Capaldi und Proskauer beobachtete Gährfähigkeit des Typhusbacillus gegenüber dem Mannit sich nur bei gehindertem Luftzutritt einstellt.

Was die eben geschilderten Farbenreactionen auf den Lackmus-Milchzucker-Agarplatten angeht, so ist ohne Weiteres ersichtlich, dass der durch Bac. coli bewirkte Farbenumschlag auf eine mit Säurebildung einhergehende

Tabelle.

Zusatz zum Lackmus-Agar	Procent	Strich von Bac. coli		Strich von Bac. typhi		Wachsthums-dauer	Bemerkungen
		Farbe des Nährbodens	Wachsthums-intensität	Farbe des Nährbodens	Wachsthums-intensität		
Traubenzucker .	1	roth	üppig	roth	spärlich	24 Stunden	
Fructose . . .	1	„	spärlich	„	„	„	
Galactose . .	1	roth „ „	mässig üppig „ „ spärlich	roth stark roth roth	mässig üppig spärlich „	„	
Mannit . . .	1	blau theils roth „ „	üppig „ „	roth „ „	spärlich „ „	„	
Dulcit	1	blau	üppig	blau	üppig	„	
Arabinose[1] . .	1	roth	mässig üppig	blau	sehr üppig	„	
Xylose . . .	1	röthlich roth „	üppig spärlich mässig üppig	röthlich roth „	üppig spärlich „	„	
Rhamnose . .	1	roth „ „	mässig üppig üppig zieml. üppig	blau „ „	üppig „ „	„	
Rohrzucker . .	1	blau	üppig	blau	üppig	„	
Maltose . . .	1	mässig roth roth	üppig „	röthlich roth	üppig mässig üppig	„	
Milchzucker . .	1	roth	üppig	blau	üppig	„	
Amylum . . .	1	blau	„	„	„	„	
Inulin . . .	1	„	„	„	„	„	
Dextrin . . .	1	„	„	violettblau	sehr üppig	„	

[1] Auf dem mit Arabinose versetzten Nährboden bildeten auch eine Reihe der in Typhusstühlen vorkommenden Alkalibildner Säure, und fast ausschliesslich die Typhuscolonieen waren blau gefärbt. Allein die Verwerthung des Präparates verbietet der hohe Preis.

Zersetzung des Milchzuckers zu beziehen ist.[1] Diese sauren Zersetzungsproducte entstehen in der üppig wachsenden Colonie, diffundiren[2] in die Nachbarschaft derselben und bewirken auch hier die entsprechende Färbung des Nährsubstrates. Die Intensität und Extensität der Farbenreaction ist abhängig von der Menge, sowie von der Diffusionsconstante der diffundirenden Stoffwechselproducte. Giebt man z. B. der Lackmus-Agarplatte einen Gehalt von 2 Procent Milchzucker, so bleibt die Colonie von Bac. coli Tage lang roth, während bei Zusatz von nur 0·1 Procent dieses Kohlehydrats die Blaufärbung der vorher deutlich rothen Colonie bei einer Temperatur von 37° nach ca. 18 Stunden auftritt. Ebenso erfolgt die Blaufärbung sehr früh, wenn man die Colicultur auf der Oberfläche einer ganz dünnen ca. $^1/_2$ mm dicken Schicht eines 2 Procent Milchzucker enthaltenden Agars ausstreicht. Je nach der Schnelligkeit also, mit welcher der Vorrath an Kohlehydraten im Umkreis der Colonie erschöpft wird[3], tritt nunmehr der durch die Colibacillen erfolgende Abbau der Eiweissstoffe in den Vordergrund, dessen Endproducte die sich schliesslich einstellende, alkalische Reaction bedingen.

Die Typhuscolonie hat von vornherein ein zarteres Wachsthum, daher geht ihr Stoffumsatz träger vor sich, wie bei den meisten Coliarten. Der charakteristische Unterschied gegenüber den Colibacillen besteht nun darin, dass der Bac. typhi bei Gegenwart von Eiweissstoffen den Milchzucker in nicht merklicher Weise angreift, vielmehr sich sofort den Proteïnsubstanzen zuwendet. Bei deren Zersetzung werden von vornherein Producte gebildet, welche vermöge ihrer alkalischen Reaction eine Blaufärbung der Typhuscolonie hervorrufen. Von dieser Eigenfärbung der Colonie kann man sich leicht überzeugen, indem man den Lackmus-Milchzucker-Agar leichthin ansäuert: die Typhuscolonie erscheint dann blau.

Wir ersehen somit, dass in selectiver Weise eine Oberflächencolonie von Bac. coli constant vorzugsweise den Milchzucker zersetzt, eine solche von Bac. typhi die Eiweissstoffe. Diese Thatsachen haben wir für ein Verfahren verwerthet, welches durch intravitale Färbung eine Unterscheidung der Typhus- von den Colicolonieen herbeiführt und vielleicht auch ganz allgemein die Trennung körperfremder

[1] Bezüglich des Chemismus der Milchsäuregährung verweisen wir auf die eingehenden Untersuchungen von Péré (12), Kayser (13) und Pottevin (14).

[2] Beyerinck (15) hat zuerst auf die Verschiedenheit der Diffusionsfelder aufmerksam gemacht.

[3] Bei länger fortgesetztem Kochen zersetzt sich der Milchzucker theilweise. Daher tritt hier die Blaufärbung der Colicolonieen viel zu früh auf. Hieraus dürften sich zum Theil die widerspruchsvollen Angaben von Kashida (a. a. O.) erklären.

Keime — Saprophyten — von den Körpereiweiss angreifenden Parasiten nach dem bisher nicht erprobten Selectionsprincip gestattet.[1]

Schon bei den ersten Versuchen, diese Methode für die Trennung und Erkennung der Typhusbacillen in den Dejectionen von Typhuskranken zu verwerthen, ergab sich sofort die Nothwendigkeit eines Oberflächenausstriches. Denn abgesehen von der Schwierigkeit, die in der Tiefe liegenden Colonieen zu erreichen, erwies sich auch deren Fermentirungsvermögen nicht so constant, wie bei ungehindertem Luftzutritt. Wir möchten glauben, dass die Eingangs erwähnten Versuche von Mathews hauptsächlich deswegen zu keinem befriedigenden Ergebniss geführt haben, weil er die entscheidende Bedeutung des Oberflächenausstriches nicht beachtet hat. Die von Kruse (16), Drossbach (17) und Burri (18) u. A. geübten Verfahren zur Erzielung von Oberflächencolonieen gestatten weder gleichmässige Vertheilung noch Isolirung der Colonieen. Es gelang uns, in einfacher Weise diesen Anforderungen zu genügen, indem wir mit einem rechtwinklig abgebogenen Glasstab, einer Art Glasspatel, das Material auf der Agarplatte verrieben, dann letztere trocken werden liessen und so ein Ineinanderfliessen der Colonieen durch sonst entstehende Condenswassertröpfchen vermieden. Ohne diesen Oberflächenausstrich wäre unser Verfahren nicht anwendbar, und es müssen daher die bezüglichen Vorschriften (s. u.) sehr genau eingehalten werden.

Im Verlauf unserer Untersuchungen stellte sich ferner die Nothwendigkeit heraus, die von den Colicolonieen gebildete, reichliche Säuremenge einzuschränken, bezw. ihre Diffusion zu erschweren. Letztere Aufgabe erledigte sich dadurch, dass der Gehalt des Nährbodens an Agar auf 3 Procent erhöht wurde. Noch höhere Concentrationen anzuwenden, ist nicht rathsam, weil sich die Colonieen auf einer gar zu harten Oberfläche weniger gut ausbreiten. Zur Abstumpfung der von den üppig wachsenden Colicolonieen gebildeten, allzu reichlichen Säuremengen empfiehlt es sich, dem bereits schwach alkalischen Nährboden eine geringe Menge Natriumcarbonat hinzuzufügen.

Diese geringe Erhöhung der Salzconcentration des Nährbodens lässt eine Plasmolyse der übertragenen Typhusbacillen nicht befürchten, und in der That haben wir niemals derartige Erscheinungen auf unserem Nährboden wahrgenommen.

In dem Bestreben, dem Typhusbacillus möglichst günstige Wachsthumsbedingungen zu schaffen, haben wir eine grosse Zahl künstlich her-

---

[1] Untersuchungen, welche mittels dieses Verfahrens bei der Ruhr angestellt wurden und ein positives Ergebniss bereits gefördert haben, werden demnächst veröffentlicht.

gestellter Eiweisspräparate in das Bereich unserer Untersuchung gezogen. Am meisten bewährte sich neben Pept. sicc. Witte Tropon und Nutrose. Der Zusatz von Nutrose zum Nährboden bewirkte zudem eine intensivere Blaufärbung der Typhuscolonieen, welche wohl auf die Alkalialbuminat-Natur des Natriumcaseïns zu beziehen ist. Ein üppigeres Wachsthum der Typhusbacillen trat auch dann ein, als wir bei Bereitung des Nähragars ein Fleischwasser verwandten, welches aus 3 Pfund Fleisch auf 2 Liter Wasser hergestellt war.

Eine Schwierigkeit war noch zu beseitigen. In Typhusstühlen finden sich häufig, besonders bei sich lange hinziehenden Typhusfällen, grosse Mengen von den verschiedensten Kokkenarten, welche durch excessive Säurebildung die Platten gänzlich rothfärben und jede Eigenfärbung der etwa sonst aufgekommenen Bakteriencolonieen aufheben. Obendrein traten sie meist in solchen Massen auf, dass sie sehr wohl eine kleine Zahl von Typhuskeimen zu überwuchern im Stande waren. Ebenso erschwerten auch eine Reihe nicht näher charakterisirter, säurebildender Stäbchenarten, ferner gewisse Alkalibildner und Sarcinearten die Entwickelung der Typhuscolonieen. Nach zahlreichem vergeblichen Versuchen, die mit den üblichen Antisepticis angestellt wurden, gelang es uns, unter Benutzung der electiven Baktericidie bestimmter Anilinfarbstoffe einen grossen Theil jener störenden Kokken- und Bakterienarten auszuschalten, ohne auch nur im geringsten hierdurch die Typhusbacillen in dem An- und Auswachsen ihrer Colonieen zu schädigen. Bei der Auswahl des Farbstoff-Antisepticums war noch darauf Rücksicht zu nehmen, dass die fermentativen Gährungsprocesse der Bakterienzellen durch dieses keine Einbusse erlitten. Von sämmtlichen geprüften Farbstoffen kamen schliesslich nur noch Malachitgrün $^1/_{1000000}$, Brillantgrün $^1/_{1000000}$, Methylenblau medic. Höchst $^1/_{100000}$, Methylviolett $^1/_{100000}$ und Krystallviolett $^1/_{100000}$ in Betracht. Und unter diesen wieder erwies sich Krystallviolett B Höchst in einer Verdünnung von 1:100000 Nähragar als der brauchbarste. Einmal wurde durch ausgedehnte, vergleichende Versuche festgestellt, dass bei gleicher Einsaat von Typhusbacillen in gewöhnliche und mit Krystallviolett $^1/_{100000}$ versetzte Agarplatten die Zahl der übertragenen Typhusbacillen hier wie dort annähernd gleich gross war. Irgend eine wahrnehmbare Schädigung der Typhusbacillen durch den Krystallviolettzusatz fand demnach nicht statt. Ferner führten entsprechende Versuche zu dem übereinstimmenden Ergebniss, dass dieser Farbstoff in der angegebenen Concentration einen grossen Theil der erwähnten Kokken- und Bakterienarten an ihrer Entwickelung verhindert. Während nämlich letztere auf Controlplatten ohne Farbstoffzusatz in reichlichen Mengen wuchsen und sogar die Typhusbacillen bisweilen vollkommen überwucherten und verdrängten,

blieb ihre Zahl bei den mit Krystallviolett versetzten Platten zum mindesten sehr eingeschränkt. Diese Entwickelungshemmung saprophytischer Keime springt sofort in die Augen, wenn man Agarplatten mit und ohne Zusatz offen an der Luft stehen lässt: jene erscheinen noch unverändert, wenn diese längst durch Bakterien und Schimmelpilze verunreinigt sind. Schliesslich wurde auch die Vergährung des Milchzuckers, wie der Abbau der Eiweissstoffe durch die Gegenwart von Krystallviolett in einer Verdünnung von 1:100 000 in kaum wahrnehmbarer Weise verzögert.

So wesentliche Dienste nun auch der Krystallviolettzusatz bei der Ausschaltung störender Begleitbakterien leistet, so sind doch auch seiner Leistungsfähigkeit gewisse Grenzen gezogen. In stark fötiden Typhusstühlen kommen nämlich bisweilen Alkalibildner vor, welche von ihm nicht beeinflusst werden. Deren Elimination ist uns bis jetzt nicht gelungen.

Ebenso haben wir uns vergeblich bemüht, ein Anreicherungsverfahren bei den Typhusbacillen zu erzielen. Mit unserem Nährboden ist es ja nur erreichbar, eine möglichst grosse Zahl von Colonieen isoliert nebeneinander auf die Platten zu bringen, je mehr fremdartige Keime aufkommen, um so geringer wird auch die Zahl der Typhuscolonieen. In Fällen also, wo nur vereinzelte Typhusbacillen in den Entleerungen vorhanden sind, würde eine vorausgehende Anreicherung und Vermehrung der Typhusbacillen den Nachweis derselben auf unserem Nährboden sehr erleichtern.

Eine gewisse Auslese der Typhusbacillen lässt sich auch dadurch herbeiführen, dass man die lebhafte, active Beweglichkeit der Typhusbacillen zu ihrer Isolirung von den unbeweglichen Bakterienarten benutzt. G. Gabritschewski (19) hat zuerst eine auf diesem Prinzip beruhende Methode zum Nachweis beweglicher Bacillen und insbesondere der Typhus- und Cholerabacillen beschrieben. In einigen Fällen sahen wir von einem recht einfachen Verfahren einigen Nutzen, das Stabsarzt F. K. Kleine uns mittheilte und freundlichst überliess. Eine Aufschwemmung des Typhusstuhls in physiologischer Kochsalzlösung[1] und ebenso möglichst frisch entleerter Harn werden längere Zeit centrifugirt, und dann nach etwa $^1/_4$ Stunde in Pausen von 10 zu 10 Minuten mehrere Plattenreihen von der Oberfläche angelegt. Von den zunächst am Boden befindlichen

---

[1] Bei der Anlage verschiedener Plattenserien aus ein und demselben Typhusstuhl machten wir häufig die Erfahrung, dass die eine Reihe mehrere, die andere gar keine Typhuskeime enthielt. Das war besonders der Fall, wenn von festen Stühlen verschiedene Theile verarbeitet wurden. Die Typhusbacillen sind also keineswegs gleichmässig vertheilt, und es ist daher dringend anzurathen, vor Bearbeitung des Materials für gehörige Mischung desselben (eventuell Schüttelmaschine) Sorge zu tragen.

Bakterien kommen lebhaft bewegliche Arten, wie die Typhusbacillen, schneller zur Peripherie, in diesem Fall zur Oberfläche, als die wenig oder nicht beweglichen.

Zur weiteren und endgültigen Bestimmung der auf unseren Platten verdächtig aussehenden Colonieen wird eine solche abgeimpft, eine Nadelspitze Bakterienmaterial zur Anstellung der Agglutinationsprobe in einem Tropfen von Immunserum auf dem Deckglas verrieben und ausserdem der Rest der Colonie zur weiteren Prüfung auf Agar übertragen. Diese Agglutination auf dem Deckglas hat sich für unsere Zwecke sehr bewährt, Irrthümer sind nahezu ausgeschlossen, wenn man sich nur an die unten folgende Vorschrift hält. In seltenen, zweifelhaften Fällen entscheidet die spätere Agglutination im Reagensglas.

Das auf diesen Grundlagen beruhende Verfahren umfasst:

1. Die Bereitung des Nährbodens.
2. Zurichtung der Untersuchungsproben.
3. Anlage von Platten mit Oberflächenausstrich.
4. Unterscheidung und
5. Feststellung der Typhuskeime.

Es wird im Folgenden ausführlich beschrieben.

II. Technik des Verfahrens.

1. Herstellung des Nährbodens:

a) Agarbereitung: 3 Pfund zerkleinertes Rindfleisch, mit 2 Liter Wasser stehen lassen bis zum nächsten Tage.

Das abgepresste Fleischwasser 1 Stunde kochen, filtriren, mit 20·0 ^{grm} Pepton sicc. Witte, 20.0 ^{grm} Nutrose, 10·0 ^{grm} Kochsalz, kochen 1 Stunde, filtriren, dazu 60.0 ^{grm} feinster Stangenagar, kochen 3 Stunden, (bezw. 1 Stunde im Autoclaven), schwach alkalisiren (Indicator: Lackmuspapier), filtriren, kochen $^1/_2$ Stunde.

b) Lackmuslösung: Lackmuslösung (nach Kubel und Tiemann) 260,0 ^{ccm}, kochen 10 Minuten, dazu Milchzucker (chemisch reiner) 30.0 ^{grm}, zusammen kochen 15 Minuten.

c) Die heisse Lackmus-Milchzuckerlösung zusetzen zu dem flüssigen, heissen Nähragar (unter a), gut schütteln, die etwa verschwundene schwach alkalische Reaktion wiederherstellen.

Darauf Zusatz von 4·0 ^{ccm} einer heissen, sterilen Lösung von 10 Procent wasserfreier Soda, ferner Zusatz von 20 ^{ccm} einer jedes Mal frisch bereiteten Lösung von 0·1 ^{grm} Krystallviolett B Höchst in 100.0 ^{ccm} warmem Aq. dest. steril.

Man hat nun einen Fleischwasserpepton-Nutrose-Agar mit 13 Procent Lackmuslösung und 0·01 pro mille Krystallviolett, welcher sehr hart erstarrt, ohne doch zu trocken zu sein. Von einem Theil giesst man sofort Platten, welche sehr wohl in Vorrath gehalten werden können (s. u.). die übrige Menge füllt man in Kölbchen von je etwa 200 ccm.

Kocht man den Milchzucker länger, wie angegeben, so zersetzt sich derselbe unter Säuerung des Nährbodens, der Milchzuckergehalt des Nährbodens sinkt unter das gewünschte Maass, und der Umschlag in der Färbung der Colicolonieen tritt dann zu früh ein. Aus diesem Grunde ist es auch nöthig, den fertigen Agar zum Zweck der Verflüssigung nicht länger als erforderlich zu erhitzen, ihn daher in Füllungen nicht zu grossen Inhaltes vorräthig zu halten.

2. Zurichtung der Untersuchungsproben:

a) Es empfiehlt sich, von Stuhlproben stets mehrere Plattenserien anzulegen, um eine möglichst grosse Zahl von Keimen isoliert neben einander auf die Platte bringen zu können. Dünne Stühle von breiiger oder flüssiger Beschaffenheit werden auf einer Plattenfolge unverdünnt, auf einer zweiten mit der 10- bis 20fachen Menge steriler Kochsalzlösung (0·85 Procent) verdünnt verstrichen (s. unten).

b) Von festen, geformten Stühlen sind nicht etwa kleine Mengen direct zu verarbeiten. Vielmehr müssen jene vorher mit wenig steriler physiologischer Kochsalzlösung gleichmässig verrieben, und von dieser Aufschwemmung eine Plattenreihe ohne weiteres, eine andere nach nochmaliger Verdünnung mit steriler Kochsalzlösung angelegt werden (s. unten).

c) Von frischem trüben Harn nimmt man nur einen Tropfen. der sofort in einer Plattenserie verarbeitet wird. Ferner wird ein Theil des Harns centrifugirt und der Bodensatz auf den Platten ausgestrichen.

Bei frischem klaren Harn wird dieser centrifugirt; nach 15 Min. werden von der Oberfläche mehrere Tropfen (bis zu 1 ccm) entnommen und auf einer Plattenfolge verrieben, nach 10 Minuten, eventuell nach weiteren zehn Minuten desgleichen. Ausserdem sind von dem Bodensatz des centrifugirten Harns eine Reihe von Platten anzulegen. Ebenso verfährt man zweckmäßig mit der Aufschwemmung von sehr festen Stühlen.

d) Bei Wasseruntersuchung haben wir möglichst grosse Mengen centrifugirt[1], und von dem Bodensatz eine Oese auf einer Reihe von 4 bis 5 Platten verstrichen. Ferner werden jedes Mal 1 bis 2 ccm Wasser direct — je nach dem mehr oder minder klaren Aussehen desselben — auf der Oberfläche der Platten verstrichen (s. unten).

[1] Versuche, welche eine vereinfachte Methodik der Wasseruntersuchung anstreben, werden zur Zeit im Institut angestellt.

3. Anlage von Platten mit Oberflächenausstrich.

Der flüssige Nährboden wird in sterile Doppelschalen mit ebenem Boden, deren Höhe nur 1 bis 2 ^{cm}, deren Durchmesser 15 bis 20 ^{cm} beträgt, in einer Menge von je etwa 20 bis 25 ^{ccm} ausgegossen. Die Agarschicht muss noch etwas durchscheinend sein, darf aber niemals unter 2 ^{mm} Dicke betragen. Die Schalen bleiben offen mindestens noch eine Stunde stehen, bis der Wasserdampf sich verzogen hat und der Agar hart erstarrt ist. Für die erste Platte, welche wegen ihrer grossen Keimzahl meist nicht zu gebrauchen ist, verwendet man eine gewöhnliche Petrischale und giebt 10 bis 12 ^{ccm} Nährsubstrat hinein. Der Oberflächenausstrich wird mit Hülfe eines in drei Ebenen gebogenen Glasstabes, dessen Dicke 5 ^{mm} beträgt, ausgeführt. Das eine Ende desselben wird über dem Bunsenbrenner in einer Länge von 5 bis 6 ^{cm} rechtwinklig umgebogen, und das Ende dieses Schenkels zu einem bei Drehung des Stabes nach links nach unten — beim Gebrauch des Glasspatels nach oben — sehenden Knopf umgeschmolzen (s. Fig.). Diesen „Glasspatel“ taucht man mit dem horizontalen Theil *a—b* in das auszustreichende Material, verreibt dasselbe mit ihm auf der harten Agaroberfläche der ersten Platte — einer gewöhnlichen Petrischale — sorgfältig nach allen Richtungen kreuz und quer und streicht in derselben Weise — ohne den Glasspatel abzubrennen —, auf einer zweiten, dritten und vierten Platte weiter aus. Man muss jede Platte unter wiederholtem Drehen derselben in den verschiedensten Richtungen mit dem Schenkel *a — b* des Spatels förmlich auf ihrer ganzen Oberfläche poliren. Auf diese Weise gelingt es, ganz gleichmässig verteilte, isolirte Oberflächencolonieen zu erzielen, und man hat es in der Hand, genau wie bei dem Plattengiessen die Zahl der Colonieen durch weitere Plattenausstriche beliebig zu verringern.

Glasspatel.

Nach beendetem Ausstrich bleiben die Platten mindestens $^1/_2$ Stunde, jedenfalls so lange offen stehen, bis die Agaroberfläche, welche meist von Condenswassertröpfchen bedeckt war, vollständig trocken geworden ist. Ohne diese Vorsicht würden die wachsenden Colonieen in einander fliessen, und

man wäre dann ausser Stande, Keime zu isoliren. Eine Verunreinigung durch Luftkeime findet wegen des Krystallviolettzusatzes kaum statt. [Im Sommer muss man allerdings die offenen Platten unter ein mit Gaze bespanntes Gestell („Mosquitokasten") hinstellen, um die sehr lästigen Verunreinigungen durch Fliegen zu vermeiden.] Die trocken gewordenen Platten werden dann umgekehrt in den Brütschrank bei 37° gestellt.

4. Die Unterscheidung der Colonieen.

Nach 14- bis 16stündigem Verweilen bei 37°, am schönsten nach 20 bis 24 Stunden sind die Colonieen folgendermaassen von einander zu unterscheiden:

a) Bac. coli: Alle untersuchten Arten echter Colibacillen — fünf Sammlungsstämme und 30 aus Stühlen frisch gezüchtete Culturen — bilden Colonieen von 2 bis 6 und mehr Millimeter Durchmesser; Farbe leuchtend roth, nicht durchsichtig. In ein und demselben Stuhl sind meist verschiedene Colicolonieen vorhanden, welche sich durch verschiedene Grösse, gekörnte oder mehr homogene Beschaffenheit, grössere oder geringere Durchsichtigkeit, sowie auch durch Intensität ihrer Färbung von einander unterscheiden. Manche Colonieen sind nur hellroth, wenig trübe, andere ganz undurchsichtig und dunkelweinroth und wieder andere bilden grössere, speckig wachsende Colonieen, die von einem roth gefärbten Hof umgeben werden.

b) Bac. typhi: Die Colonieen haben einen Durchmesser von 1 bis 3 mm, selten sind sie grösser. Ihre Farbe ist blau (mit einem Stich in das Violette). Structur: glasig, nicht doppelt contourirt, thautropfenähnlich. Nur in seltenen Fällen, bei besonderer Wachsthumsenergie (so bei einigen Fällen schwerer Recidive) besitzt die relativ grosse Colonie ein mehr trübes Aussehen.

c) Eine Reihe anderer, gleichfalls blau gefärbter Colonieen gehören in die Bac. subtilis-Gruppe. Sie gleichen an Grösse und Structur ihrer Colonieen bisweilen dem Bac. coli, und man wird sie daher schon wegen ihrer Grösse mit Typhusbacillen nicht verwechseln. Manche Colonieen zeigen auch eine deutliche doppelte Contour und üppiges, speckiges Wachsthum. Endlich bilden einige auch blaue, glasige Colonieen, welche in ihrer Mitte einen sich dunkel abhebenden Knopf („Nabel") aufweisen, der jede Verwechslung mit Bac. typhi ausschliesst.

d) Endlich kommen in fötiden Typhusstühlen, in länger gestandenem Harn und auch im Wasser bisweilen Keime vor, die in Farbe und Structur ihrer Colonie den Typhuscolonieen sehr ähnlich aussehen, nur zumeist sich zu etwas grösseren Colonieen entwickeln. Hierher gehören Bacillen,

welche der Proteusgruppe zuzurechnen sind, ferner Bac. fluorescentes und Bac. faecalis alcaligenes. Abgesehen davon, dass diese Bakterienarten bei Verarbeitung von möglichst frischem Material nur seltener sich nachweisen lassen, können wir leicht und schnell ihre Unterscheidung von den Typhusbacillen durch die sofort vorzunehmende Agglutinationsprobe auf dem Deckglas herbeiführen (s. unten).

5. Identificirung der typhusverdächtigen Colonie (vgl. 4, b.) durch Agglutination.

Die Colonie wird mit einer ganz feinen Platinnadel angestochen und die nur der Spitze anhaftende Bakterienmasse auf ganz sauberem Deckglas in einem Tröpfchen verdünnten, hochwerthigen Immunserums rasch und gründlich verrieben, so dass eine völlig gleichmässige, ganz leicht getrübte Emulsion entsteht. Handelt es sich um eine Typhuscolonie, so sieht man meist sofort, jedenfalls innerhalb weniger Minuten, makroskopisch oder unter Zuhülfenahme einer Lupe Flöckchen entstehen, die rasch zunehmen: „der Tropfen gerinnt". Das Deckgläschen wird nun auf den hohlen Objectträger gebracht und mit schwacher Vergrösserung, sowie mit der Oelimmersion auf die bekannten Erscheinungen der Agglutination hin untersucht. Konnte man nur wenig Material von einer kleinen Colonie verreiben, so zeigen sich bei Betrachtung mit der Oelimmersion überall zierliche, kleine, compacte Häufchen, die an den Rändern besonders lebhaft um sich schlagende Bacillen aufweisen. Zwischen den einzelnen Häufchen sind keine oder nur ganz wenige, freiliegende, vereinzelte Bacillen sichtbar. Wenn man mehr Bakterienmaterial verrieb, so ist dann das ganze Gesichtsfeld von grossen, dichten Haufen erfüllt, an deren Rande man gleichfalls in lebhafter Bewegung befindliche Bacillen gewahrt.

Von dieser echten Agglutination ist die sogenannte Pseudoagglutination leicht und mühelos zu unterscheiden. Manche Bakterienarten haben nämlich an und für sich die Neigung, sich auf dem Deckglas an einander zu legen, lose zu verkleben und ganz lockere Häufchen zu bilden. Statt der dichten, agglutinirten Haufen sind aber hier nur dünne, aus neben einander gelagerten Bakterien bestehende Bakterienhäufchen wahrzunehmen, und ausserdem werden die Zwischenräume zwischen diesen Häufchen von freiliegenden, einzeln angeordneten Bacillen ausgefüllt. Derartige Erscheinungen werden den geübten Beobachter nicht täuschen. In ausserordentlich seltenen Fällen ist allerdings auch bei der Agglutination auf dem Deckglas ein Irrthum möglich. Es sind nämlich bereits einige der Coligruppe angehörige Bakterienarten beschrieben worden, welche, mit Typhusimmunserum zusammengebracht, eine echte Agglutination auf-

wiesen.[1] Auch wir haben in einigen seltenen Fällen in Typhusstühlen Colibacillen aufgefunden, welche mit hochwerthigem Typhusimmunserum von Kaninchen, nicht aber von Ziegen, in einer Verdünnung von 1:250 sogleich agglutinirten. Ferner trafen wir auch mehrmals gelatineverflüssigende Kokkenarten in Typhusstühlen an, welche in der gleichen Verdünnung sofortige Agglutination mit Typhus-Immunserum von Kaninchen zeigten. Derartige Befunde sind, wie gesagt, ungemein selten und daher keinesweg geeignet, den hohen Werth der Agglutinationsprobe herabzusetzen. Selbst zugegeben, dass in Epidemiezeiten unter hundert Fällen vielleicht einer auf Grund des vorläufigen Agglutinationsbefundes zu viel gemeldet wird, — in ruhigen Zeiten klärt ja ohnehin die weitere Prüfung der Cultur den Irrthum auf —, auf jeden Fall schlüpft kein einziger Fall von Typhus durch. Die Agglutinationsprobe wird um so zuverlässiger, je hochwerthiger das Typhusimmunserum ist, und je höher demnach der Verdünnungsgrad des Serums gewählt wird.[2] Wenn die zu prüfende Colonie genügend Material bietet, empfiehlt es sich, neben einem 200fach auch ein 1000fach verdünntes Immunserum anzuwenden.

Der Rest der Colonie wird einmal auf gewöhnlichen Agar, sowie auf den von Rothberger (21) angegebenen, empfehlenswerthen Neutralrothagar[3] übertragen. (Typhusbacillen, aber auch einige Alkalibildner, verändern die rothe Farbe dieses Nährbodens nicht und bilden kein Gas.) Des weiteren wird dann am zweiten Tage mit der Agarcultur die übliche, makroskopische Agglutinationsprobe im Reagensglas angestellt und eventuell noch die Impfung in Lackmusmolke vorgenommen.

In einer Reihe von Fällen beobachteten wir, dass eine Colonie von typhusverdächtigem Aussehen typische Agglutination gab und trotzdem nach Uebertragung auf Neutralrothagar diesen entfärbte und Gasblasen erzeugte. Machte man von dieser Cultur erneute Ausstriche, indem man mit einer Platinnadel eine kleine Menge in Bouillonröhrchen übertrug, hieraus eine Oese auf drei Platten unseres Nährbodens verrieb, so stellte

[1] Jüngst hat Köhler (20) die hierher gehörigen Befunde übersichtlich zusammengestellt.

[2] Wir benutzten zuletzt eine 200fache und daneben eine 1000fache Verdünnung eines Ziegenserums, dessen Grenzwerth über 10000 liegt. Mit 0·5 Procent Carbolsäure versetzt ist dieses schon Monate lang brauchbar, geht allerdings allmählich in seiner Wirksamkeit herab. Weitere Untersuchungen werden zu entscheiden haben, ob das Ziegenimmunserum sich durch absolute Specifität der agglutinirenden Wirkung gegenüber Typhusbacillen vor dem Kaninchenimmunserum auszeichnet.

[3] Auf 100·0 Nähragar 0·3 Procent Traubenzucker und 1·0 ccm einer gesättigten, wässerigen Lösung von Ehrlich's Neutralroth. Diese Vorschrift muss genau inne gehalten werden, weil eine höhere Concentration des Neutralroths die Vergährung des Traubenzuckers hemmt.

sich heraus, dass die Ausgangscolonie aus zwei, öfters sogar aus drei verschiedenen Keimarten bestanden hatte, unter denen der Typhusbacillus prävalirte. Oefters erforderte die Reinigung dieser „Mischcolonieen“ eine wiederholte Anwendung der beschriebenen Trennungsmethode.

III. Ergebnisse.

Das hier mitgetheilte Verfahren ist bei einiger Uebung leicht anwendbar. Aussicht auf Erfolg bietet es nur bei peinlicher Beobachtung der gegebenen Vorschriften. Um sich in die Methode einzuarbeiten, legt man sich zweckmässig Testplatten an, indem man je 1 Oese einer Aufschwemmung von Typhus- bezw. Colibacillen auf je eine Plattenserie von 3 bis 4 Platten und ausserdem noch auf 3 bis 4 weitere Platten ein Gemisch beider Bakterienarten verreibt. Bei der Betrachtung der Platten hält man sie am besten gegen einen dunklen Untergrund; der Lackmusfarbstoff hat nämlich eine starke Neigung, zu irisiren, deswegen sehen auch bei Lampenlicht blaue Colonieen röthlich aus. Es ist daher eine gewisse Uebung erforderlich, um den — an sich ganz ausgeprägten — Farbenton besonders bei jungen Colonieen richtig zu erkennen. Weiterhin ist es rathsam, von einer mit Typhusbacillen versetzten Stuhlprobe einige Platten mittels des Oberflächenausstrichs zu beschicken. Wenn die Vertheilung und Isolirung der Keime gut geglückt ist, sieht man neben viel grösseren rothen Colonieen die zarten, blauen Typhuscolonieen, sticht eine solche ab und stellt dann die Agglutination auf dem Deckglas an. Auf diese Weise gelingt es, bereits nach 18, spätestens nach 24 Stunden in jedem einzelnen Falle Typhusbacillen aufzufinden. In der Schnelligkeit, mit welcher unsere Methode die Trennung und Erkennung des Bac. typhi herbeiführt, liegt nicht zum Geringsten ihre praktische Bedeutung.

Wir haben bisher Gelegenheit gehabt, das Verfahren an 50 Typhusfällen erproben zu können und zwar an Patienten, welche sich in den verschiedensten Stadien der Erkrankung befanden.[1] In sämmtlichen Fällen wurde der Nachweis der Typhusbacillen in den Entleerungen geführt. In einer Reihe von Fällen musste die Untersuchung wiederholt werden, bis sie ein positives Ergebniss förderte.

---

[1] Für die gütige Ueberlassung dieses Materials sind wir den Herren Geheimrath Fürbringer, PProf. Grawitz, Krönig, Goldscheider, den Herren Oberarzt Bloch und Assistenzarzt Eschenhagen, sowie Hrn. Dr. H. Vogt zu lebhaftem Dank verpflichtet.

Bisweilen fanden wir bei einem Patienten das erste Mal gar keine Typhusbacillen in den Fäces, wenige Tage später wurden sie in reichlicher Menge auf unseren Platten nachgewiesen. Ebenso wenig wie jede Oese verdächtigen Stuhles nun auch Typhusbacillen enthält, ebenso wenig ist es demnach richtig, bei jeder Defäcation eine Ausscheidung von Typhusbacillen anzunehmen. Zudem gehen die Typhusbacillen ausserhalb des Körpers verhältnissmässig rasch in den Fäces zu Grunde. Wenn man nämlich einen reichlich Typhusbacillen enthaltenden Stuhl bei Zimmertemperatur stehen lässt, so fällt es bereits nach wenigen Tagen schwer, sie nachzuweisen.

Es sind also die Stühle möglichst frisch und bei negativem Befund mehrmals zu untersuchen.

Im Einzelnen stellte die bakteriologische Untersuchung bei mehr als der Hälfte aller Fälle Typhusbacillen zu einer Zeit fest, zu der die Widal'sche Serumreaction bei einer Verdünnung 1:10 negativ ausgefallen war. Vor dem fieberhaften Stadium kam kein manifester Fall zur Bearbeitung. Dagegen wurde bei drei bereits fieberfreien Patienten mit geformten, völlig normal aussehenden Entleerungen die Anwesenheit von Typhusbacillen festgestellt.

In fünf Fällen war die klinische Diagnose ganz unsicher. Fieber fehlte oder konnte auf bestehende Lungenaffectionen bezogen werden. Roseola und Milztumor waren nicht vorhanden, Diazoreaction und die Widal'sche Probe wurden vergebens angestellt. Die bakteriologische Untersuchung stellte hier durch den Befund von Typhusbacillen in den Stühlen auch die klinische Diagnose sicher.

Schliesslich haben wir noch auf Veranlassung von Herrn Geheimrath Koch unsere Untersuchungen auch auf solche Personen ausgedehnt, welche sich fortgesetzt in der unmittelbaren Umgebung von Typhuskranken aufhielten und daher der Gefahr einer Typhusinfection am meisten ausgesetzt waren. R. Koch (22) verdanken wir den bedeutsamen Nachweis, dass in Cholerazeiten völlig gesunde Menschen sich mit Choleravibrionen inficiren, ohne irgend welche Krankheitssymptome zu zeigen. Diese klinisch unverdächtigen Fälle sind es, welche unbemerkt den Infectionsstoff in alle Winde tragen und der Verschleppung der Choleraseuche weitgehendsten Vorschub leisten. Eine erfolgreiche Bekämpfung der Choleraepidemieen ist nur unter Berücksichtigung dieser Thatsache durchführbar. „Wie der Chirurg, wenn er eine bösartige Neubildung sicher entfernen will, im Gesunden schneidet", so muss auch „die Exstirpation des Cholerakeimes gewissermaassen im Gesunden geschehen, wenn sie Aussicht auf Erfolg haben soll". (R. Koch, a. a. O. S. 101.) Auch für den Typhus können wir auf Grund unserer Untersuchungen die Thatsache hinstellen, dass Menschen aus

der typhusdurchseuchten Umgebung die Typhusbacillen aufnehmen, mit sich herumtragen und trotzdem keinerlei Krankheitsanzeichen darbieten. Bei vier Personen ist uns der Nachweis von vereinzelten Typhusbacillen in ihren zum Theil völlig normal aussehenden Darmausleerungen geglückt, ohne dass die klinische Untersuchung auch nur den Verdacht einer bestehenden Typhus-Infection gerechtfertigt hätte. Bei dem einen Fall bestand nur ein Mal, bei dem anderen drei Tage hindurch Durchfall; Fieber und Krankheitsgefühl waren nicht vorhanden. Bei zwei anderen Fällen lagen überhaupt nicht die geringsten Abweichungen von der Norm vor. Die bakteriologische Untersuchung wurde nur aus dem Grunde vorgenommen, weil diese Menschen mit Typhuskranken dieselben Wohnräume inne gehabt hatten. Diese Thatsachen gewinnen für die Epidemiologie des Typhus erhöhte Bedeutung.

Eine fortlaufende Untersuchung von Typhusharn konnte bisher nicht stattfinden. Es sind bisher nur in drei Fällen Typhusbacillen aufgefunden worden. Wie neuerdings Schüder (23) zeigte, sind regelmässige und lange Zeit fortgesetzte Untersuchungen nothwendig, um mit Hülfe der bisherigen Methoden im Urin in ca. 30 Procent Typhusbacillen nachzuweisen.

Die Auffindung von Typhuskeimen im Wasser gelang bei künstlichen Gemischen. Je 1 Liter Wasser aus dem stark verunreinigten Berliner Nordhafen, das mehrere Tage bei Zimmertemperatur gestanden hatte, (Keimgehalt = 900000 in 1^{ccm}), wurde ein Mal mit $^1/_{100}$ Oese einer 24 stündigen Typhus-Bouillonkultur, ein anderes Mal mit $1 \cdot 0^{grm}$ eines Typhusstuhls, der bei der Tags zuvor angestellten Untersuchung reichliche Typhusbacillen ergeben hatte, in der Schüttelmaschine geschüttelt, bis keine groben Theilchen mehr sichtbar waren: in beiden Fällen wurden vereinzelte Typhuscolonieen isolirt. In unversetzten Wasserproben konnten keine Typhuskeime ermittelt werden.

Wir fassen die mit der beschriebenen Methode erzielten Resultate in folgenden Sätzen zusammen:

1. Bei Vorliegen einer Typhuserkrankung gelingt es in jedem einzelnen Falle sofort oder nach wiederholter Untersuchung fast stets innerhalb 18, spätestens nach 24 Stunden Typhusbacillen aufzufinden.

2. Auch in solchen Fällen, welche klinisch unsichere oder überhaupt keine Krankheitszeichen darboten, wurden Typhusbacillen festgestellt.

3. Die bakteriologische Untersuchung ermöglichte bisweilen in zweifelhaften Fällen die Typhusdiagnose zu einer Zeit, wo alle sonstigen, diagnostischen Hülfsmittel im Stich liessen.

Die Anregung zu der Ausarbeitung des beschriebenen Verfahrens verdanken wir Herrn Geheimrath Koch. Ihm, wie Herrn Professor Frosch fühlen wir uns für die werthvollen Rathschläge zu lebhaftem Dank verpflichtet.

Litteratur-Verzeichniss.

1. Hayaschikawa, *Hygienische Rundschau.* 1901. Nr. 19.
2. Chantemesse und Widal, *Arch. de physiol. norm. et path.* 1887. Nr. 2.
3. Petruschky, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1889. Bd. VI. S. 625, 657.
4. Th. Smith, *Ebenda.* 1890. Bd. VIII. S. 389. — 1891. Bd. IX. S. 367.
5. R. Wurtz, *Arch. de méd. expér. et d'anat. path.* 1892. T. IV. p. 85, 383.
6. Péré, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1892. T. VI. p. 512.
7. Germano und Maurea, Ziegler's *Beiträge.* Bd. XII. S. 494.
8. Capaldi und Proskauer, *Diese Zeitschrift.* 1896. Bd. XXIII. S. 452.
9. Kashida, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1898. Bd. XXI. S. 802.
10. A. P. Mathews, Ref. *Ebenda.* 1894. Bd. XVI. S. 214.
11. Lösener, *Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1895. Bd. XI. S. 235.
12. Péré, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1898. T. XII. p. 63.
13. Kayser, *Ebenda.* 1894. T. VIII. p. 737.
14. Pottevin, *Ebenda.* 1898. T. XII. p. 49.
15. Beyerinck, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1891. Bd. IX. S. 781.
16. Kruse, *Ebenda.* Bd. XV. S. 419.
17. Drossbach, *Ebenda.* Bd. XII. S. 653.
18. R. Burri, *Inaug.-Dissert.* Zürich 1893.
19. G. Gabritschewsky, *Diese Zeitschrift.* 1900. Bd. XXXV. S. 104.
20. Köhler, *Klinisches Jahrbuch.* 1901. S. 104.
21. Rothberger, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1898. Bd. XXIV. S. 513.
22. R. Koch, *Diese Zeitschrift.* 1893. Bd. XV. S. 89.
23. Schüder, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1901. Nr. 44.

Die Bubonenpest am La Plata.

Vortrag,
gehalten in der deutschen akademischen Vereinigung in Buenos Aires.

Von

O. Voges.

Im September 1899 gelangten an verschiedene Zeitungen von Buenos Aires, sowie an die Regierung Mittheilungen, dass in Asuncion, der Hauptstadt von Paraguay, eine Krankheit mit epidemischem Charakter ausgebrochen sei, welche bereits eine Anzahl Opfer gefordert hätte. Ich wurde von der Regierung mit dem Studium dieser Krankheit betraut, und reiste mit dem ersten Assistenten des mir unterstellten Laboratoriums, Dr. Juan Carlos Delfino, nach dort.

Bald nach unserer Ankunft in Asuncion hatten wir Gelegenheit, mit mehreren der dortigen Aerzte zu sprechen, und so erfuhren wir, dass eine Anzahl Soldaten nebst einigen Personen, die mit denselben in Berührung gekommen waren, erkrankt bezw. gestorben seien. Die Diagnose der Aerzte schwankte aber gewaltig; denn nach der Meinung des Einen war es Beri-Beri, ein Zweiter diagnosticirte Typhus abdominalis, nach einem Anderen war es eine Erysipelepidemie, nach Anderen Typhus exanthematicus und andere Krankheiten mehr. Einige erklärten die Krankheit für eine völlig neue und unbekannte, wieder Andere hielten sie für identisch mit einer unter den Kühen aufgetretenen Krankheit.

Aus diesem Wirrwarr von Angaben galt es zunächst, ein klares Bild des klinischen Verlaufes der Krankheit zu gewinnen. In einem entsetzlichen Rancho, in dem sich Myriaden von Fliegen und Mosquitos aufhielten und in dem auch einige Schweine freien Zu- und Ausgang hatten, fanden wir zwei schwerkranke Soldaten, sowie weitere vier, die sich bereits auf dem Wege der Besserung befanden. Im Militärspital lagen ebenfalls

eine grössere Anzahl Reconvalescenten, im Ganzen 28 Personen. Die Kranken hatten hohes Fieber, zum Theil Delirium; als auffallendes Krankheitssymptom fand sich eine Anschwellung der Lymphdrüsen der verschiedenen Körpergegenden. Diese Bubonen waren theils im Stadium der entzündlichen Schwellung, theils in Eiterung übergegangen. Das ganze Krankheitsbild erweckte sofort den Verdacht, es könnte sich um Bubonenpest handeln. Aber schon das Aussprechen dieser Vermuthung musste als geradezu ungeheuerlich bezeichnet werden; denn war es auch bekannt, dass in Oporto die Bubonenpest ausgebrochen war, so war doch in ganz Amerika diese Krankheit völlig unbekannt. Wie sollte sie nun im innersten Centrum von Südamerika auftreten, welches geradezu weltabgeschlossen liegt und nur durch einen spärlichen Schiffsverkehr mit den La Plata-Staaten in Verbindung steht. Eines aber stand fest: die Diagnosen, die man mir angegeben hatte, waren sämmtlich falsch; es handelte sich nicht um Typhus abdominalis, nicht um exanthematicus, weder um Beri-Beri, noch um Erysipelas oder Anderes mehr. Schwanken konnte man nur, ob es sich um Pest oder um eine einheimische, bisher noch nicht wissenschaftlich studirte Krankheit handelte. Von dem Professor der Botanik, Chemie und Mineralogie an der dortigen Universität, Herrn Anisits, wurden mir zwei Ausstrichpräparate, mit Methylenblau gefärbt, von Bubonen-eiter eines kurz vorher Gestorbenen gezeigt; dieselben enthielten eine Reincultur zahlloser Bakterien, die in nichts von den bekannten Pestbacillen sich unterschieden. Dieser Thatbestand wurde der Regierung in Buenos Aires sofort mitgetheilt mit dem Bemerken, dass es sich um pestverdächtige Erkrankungen handle.

Im weiteren Verlauf der Untersuchung wurde mittels Pravazspritze der flüssige Inhalt verschiedener Bubonen aspirirt und untersucht. In directen Ausstrichpräparaten gelang die Auffindung von Bakterien nicht, dagegen fanden sich in Agar- und Bouillonculturen Bacillen, die im weiteren Verlauf als echte Pestbacillen von Kitasato und Yersin gekennzeichnet wurden.

Gang der Untersuchung des pestverdächtigen Materials.

Bei Lebenden wird der Inhalt von Bubonen mit sterilisirter Pravazspritze herausgeholt; an den Leichen werden die Bubonen mit sterilisirten Instrumenten geöffnet; in wichtigen Fällen werden bei Lebenden die Bubonen exstirpirt und so zur Untersuchung verwandt. Bei Leichen werden die inneren Organe, vor allem Blut, die inneren Drüsen und Milz untersucht. Bei der Lungenpest wird der Auswurf in sterilisirte Petri'sche Schalen entleert, mit sterilisirtem Wasser tüchtig gewaschen, um alle Bei-

mengungen abzuspülen, und dann untersucht, und zwar in der Weise, dass das betreffende Material in dünner Schicht auf Deckgläschen verrieben, an der Luft getrocknet, hierauf in absolutem Alkohol fixirt und nochmals getrocknet wird. Die Färbung geschieht — ohne jegliche Anwendung von Hitze — durch Ueberschichten der Deckgläser mit Ziehl'scher Lösung, die zur Hälfte mit Wasser verdünnt ist. Da aber die Durchtränkung der Pestbacillen mit Farbstoff augenblicklich erfolgt, so ist es geboten, die Farbe sofort nach Berührung mit dem Deckglas wieder abzuspülen, um eine Ueberfärbung zu vermeiden. Auf diese Weise erzielt man jene schönen Präparate mit ausgesprochener Polfärbung. Die Präparate werden, getrocknet, in Cedernöl oder Canadabalsam untersucht. In derselben Weise werden Reinculturen gefärbt. Bemerken muss ich jedoch an dieser Stelle, dass die erwähnte Polfärbung in länger fortgezüchteten Reinculturen mehr und mehr verschwindet, so dass in älteren Culturen eine gleichmässige Färbung der ganzen Zellen häufiger ist.

Dieser Untersuchung folgt die Gram'sche Färbung, sowie die Untersuchung im hängenden Tropfen. Gleichzeitig werden Culturen angelegt in Agar-Agar und Bouillon (Gelatine ist bei dem heissen Klima natürlich ausgeschlossen). — Zur weiteren Sicherung der Diagnose wurde auch noch der Thierversuch herangezogen, und zwar wurden Meerschweinchen, weisse und graue Ratten, Mäuse und Affen geimpft.

Und erst als alle diese angeführten Methoden der Untersuchung, getreulich durchgeführt, eine Uebereinstimmung mit dem Yersin-Kitasato'schen Pestbacillen als Resultat ergeben hatten, erst dann wurde die definitive Diagnose auf Bubonenpest gestellt, die denn auch nachträglich von den Professoren Löffler-Greifswald und Fränckel-Jena auf Grund der diesen Herren von mir übersandten Pestculturen bereitwilligst nach eingehender Prüfung bestätigt wurde, wofür meinen verbindlichsten Dank zu sagen, ich auch an dieser Stelle nicht versäume. Aus der grossen Zahl von Einwänden gegen obige Diagnose Seitens der einheimischen Paraguayer gebildeten Welt kämen nur zwei bei einer wissenschaftlichen Kritik in Betracht:

1. Die in Asuncion aufgetauchte Krankheit ist eine noch nicht wissenschaftlich studirte.

Indes weisen die bakteriologischen Befunde und die klinischen Symptome, sowie die Sectionsbefunde übereinstimmend auf Bubonenpest hin, so dass es völlig überflüssig erscheint, nach einer anderen Krankheit zu suchen; ja selbst die Anfangs erbittertsten Gegner meiner Diagnose haben sich späterhin in deren eifrigste Verfechter umgewandelt, insbesondere als die in Rosario, Buenos Aires, Santos und Rio de Janeiro anlässlich der dort

herrschenden Pest gemachten Befunde sich vollständig mit denen in Asuncion erzielten deckten.

2. Die Krankheit ist identisch mit einer seit Jahren im Lande endemischen Krankheit der Kühe, Peste de vacas, in der Guarani-Sprache Paleta-Rurú genannt.

In der einschlägigen Litteratur finden sich zwar einige Angaben, wonach bei Kühen Pestbubonen auftreten können; dieselben sind jedoch so spärlich und so schwach bestätigt, dass sie noch nicht allgemeine Anerkennung gefunden haben.

Thatsache ist, dass unsere Rinderrassen nicht an der Pest erkranken. Nun existirt aber in Paraguay eine einheimische, halbwilde Rinderrasse, die nur mit einer anderen, von Matto grosso — Brasilien — eingeführten grösseren abwechselt. Es war also immerhin die Möglichkeit gegeben, dass diese Thiere für Pest empfänglich seien. Ich bemühte mich daher, derartig erkrankte Thiere zur Untersuchung zu bekommen. Gelegenheit hierzu fand ich anlässlich einer Expedition nach Yutí. Nach Berichten des dortigen Sanitätsbeamten waren nämlich in letzter Zeit eine grössere Anzahl Menschen und ausserdem auch viele Kühe und Pferde der Pest erlegen. In dem Doctor dieses Districtes lernte ich einen brasilianischen Curandero kennen, der über das leibliche Wohl von 4000 Menschen zu wachen hatte und der seine medicinische Gelehrsamkeit dem, wie er sagte, ganz ausgezeichneten Buche des „grande“ Tschernowitz, seines grossen brasilianischen Landsmannes, zu verdanken hatte. Von der Existenz von Bacillen oder gar eines R. Koch hatte der glückliche Einsiedler nie vernommen. Seitdem er aber in den Zeitungen aus Asuncion gelesen, dass dort die Pest herrsche, nannte er jede Krankheit, die nicht in seinem „grande“ Tschernowitz verzeichnet stand, einfach „Peste“. Als eclatante Fälle von Peste zeigte er mir eine Zahnfistel und einen Furunkel; in seiner Todenliste fungirten eine Anzahl Personen als Pestopfer, die offenbar an Typhus, Tuberculose, Apoplexie u. a. m. gestorben waren. Glücklicher Weise war dieser Gelehrte nicht so für seine Diagnose engagirt, dass er sich leicht bewegen liess, seinen Toden eine andere Todesursache in den Todenregistern mitzugeben.

Waren diese Erfahrungen nicht gerade sehr ermuthigend, so entschloss ich mich doch zu einer Expedition in den Camp, um die fraglichen Viehpestarten zu studieren.

Das Ergebniss dieser Expedition ist im Folgenden niedergelegt.

1. Die Pferdeseuche.

Auf einer Estancia, auf der seit Jahren keine fremden Pferde zugeführt waren, war plötzlich seit 2 Monaten unter den 70 Pferden des Be-

standes eine bisher unbekannte Krankheit ausgebrochen, von der 68 Thiere befallen wurden. Die Krankheit hatte unterschiedslos junge wie alte Pferde befallen, Hengste, Wallachen und Stuten. Die jungen Pferde und Fohlen waren meist eingegangen, ältere seltener; von den 70 Pferden erlagen 40.

Im Beginn der Krankheit sind die Thiere sehr unruhig, laufen hin und her und suchen mit Vorliebe schattige Plätze auf; bald darauf wird ihr Gang schwerfällig, und sie gehen nur vorwärts, wenn sie direct angetrieben werden; der Gang wird immer schleppender, schwankender, die Beine werden nur mangelhaft bewegt und schleifen am Boden her; auch die Futteraufnahme lässt mehr und mehr nach, die Thiere uriniren sehr häufig; jedoch ist nie Blut im Harn beobachtet worden. Die Thiere magern rapide und stark ab; die meisten gehen bereits nach acht Tagen zu Grunde, einige etwas später. Vor dem Tode scheinen sie benommen und den Verstand verloren zu haben; manche fallen plötzlich um und sind todt, andere wieder liegen noch 24 Stunden, ehe sie verenden. Ich habe bei verschiedenen Thieren Temperaturmessungen vorgenommen, und dabei Temperaturerhöhungen — bis auf 40° und darüber — wahrgenommen, während die Athmung erhöht (80) oder auch unternormal (30) war. Bei manchen Thieren tritt zuweilen vorübergehend Husten auf, während andere wieder — ebenfalls vorübergehend — an Diarrhoeen leiden. Die Lymphdrüsen sind häufig angeschwollen, manchmal sogar beträchtlich. Ich hatte Gelegenheit, ein solches Pferd zu schlachten und die Section vorzunehmen. Vor dem Tode hatte das sehr heruntergekommene Thier eine Temperatur von 39·8°, Athmung 38. Der makroskopische Sectionsbefund ergab ziemlich wenig Anhaltspunkte. Die inneren Organe waren sehr blutreich; es machte sich eine venöse Stauung bemerkbar; die Milz war weich und vergrössert. Auffallend war ausserdem, dass der Darm die verschiedensten Würmer beherbergte und zwar in nicht unbedeutenden Mengen; jedoch sollen diese Parasiten in jedem Pferdedarm vorkommen. Die mikroskopische Untersuchung von Blut, inneren Organen u. s. w. ergab nichts, das man als mikroskopisches Lebewesen hätte ansehen können; auch auf Agar-Agar ausgeführte Culturen gaben keinerlei Ergebniss.

Aus all dem Angeführten ergiebt sich mit Sicherheit, dass es sich bei der in Frage kommenden Pferdeseuche nicht im Geringsten um eine Infection mit Bubonenpestbacillen handeln kann. Zwar liegt noch die Vermuthung nahe, die Krankheit sei eine andere Form des auch in Paraguay wohlbekannten Mal de caderas. Aber die Eingeborenen selbst, die die Mal de caderas-Krankheit sehr wohl kennen, erklären sie mit Bestimmtheit für eine andere.

Gegen obige Annahme spricht zudem das Fehlen des blutigen Urins, die ausserordentliche Kürze der Krankheit, sowie die geringe Sterblichkeit.

Ich weise schon hier darauf hin, dass die Krankheitsdauer bei Mal de caderas mehrere Monate beträgt, und dass jedes davon befallene Thier zu Grunde geht.

Man könnte auch noch an die afrikanische Pferdesterbe denken; indes finden sich auch da genug Unterscheidungsmerkmale. An der Fortsetzung dieser Studien war ich zu meinem Bedauern durch die mir übertragenen Pestarbeiten, die meine ganze Kraft in Anspruch nahmen, gehindert. Aber vielleicht geben obige Aufzeichnungen anderswo Veranlassung, nach ähnlichen Erkrankungserscheinungen zu forschen.

2. Die andere Thierseuche, die mir auf dieser Expedition aufstiess, war das lang gesuchte Paleta-Rurú, die Rinderpest, die nach den verschiedensten Erkundigungen, die ich machen konnte, in Paraguay identisch mit der Menschenpest sein sollte. Nach den von mir angestellten eingehenden Forschungen und Beobachtungen ergiebt sich aber, dass es sich um eine Erkrankung der jungen Rinder und Kälber handelt.

In Paraguay Paleta-Rurú genannt, ist diese Krankheit in Brasilien unter dem Namen Manquea bekannt, während sie die Entre-Rianer Carrhua heissen. Die jungen Thiere haben beulenartige Anschwellungen unter der Haut, in der Regel in der Gegend der Schulterblätter oder der Hüftgelenke. In manchen Fällen zeigen sich diese Tumoren am Knie- oder an den Sprunggelenken; ich habe sogar Fälle beobachtet, wo sie über den Klauen zum Vorschein kamen. Diese Geschwülste sind aber nicht etwa hart, sondern fast teigig; allmählich nehmen sie an Ausdehnung zu und erweichen immer mehr. Nun ist aber ein Durchbruch der erweichten Massen durch die dicke, harte Haut ziemlich schwierig: daher dehnen sich die Abscesse im Unterhautzellgewebe aus, und schliesslich kommt es zur Bildung von Senkungsabscessen, die derart grosse Dimensionen annehmen können, dass das ganze Bein wie bei Elephantiasis geschwollen erscheint. Die Thiere können natürlich nur äusserst mühselig sich fortbewegen, haben hohes Fieber, magern stark ab und gehen etwa im Verlaufe einer Woche zu Grunde. Bei der Section findet man die Geschwülste angefüllt mit röthlich-grau-gelbem Eiter, der dünnflüssig und untermischt ist mit kleineren oder grösseren Fetzen necrotisirten Bindegewebes. Der Geruch dieses Eiters ist entsetzlich, aber geradezu specifisch für diese Krankheit, so dass man nach Feststellung seines Vorhandenseins sofort die sichere Diagnose stellen kann. Bereits in den erst entstehenden Tumoren hat der Eiter diesen eigenthümlichen Geruch, nur ist die Farbe mehr milchig-weiss.

Man sieht also, dass es sich um einen im Unterhautbindegewebe abspielenden Vorgang handelt, an dem die Lymphdrüsen nicht betheiligt

sind; secundär entzündet können allerdings auch diese sein, ich habe aber bis jetzt nur eine entzündliche Schwellung, aber nie eine Eiterung beobachten können. Die inneren Organe sowie der übrige Organismus sind frei von pathologischen Veränderungen gröberer Art. Es kommt nun häufig vor, dass die dem Abscess benachbarten Gelenke betroffen werden, ja dies ist sogar in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle die Regel. Die Folge ist Gelenkvereiterung; nun werden auch Periost und Knochen in Mitleidenschaft gezogen, ausgedehnte Knochenwucherungen bilden sich, es entstehen die grössten Verunstaltungen der Gelenkflächen, und schliesslich kommt es zu vollständigen Ankylosen unter Verkürzung des Beines und dessen gleichzeitiger mehr oder weniger grossen Verdrehung. Die Ausgestaltung dieser Vorgänge erfordert naturgemäss längere Zeiträume, es ist das die Entwickelung der chronischen Form der Krankheit, die in der Regel dann eintritt, wenn der ursprüngliche Abscess — was jedoch nicht häufig eintritt — eine Oeffnung nach aussen gefunden hat, die zur Fistelbildung Anlass giebt. In solchen Fällen hat dann oft diese Fistel directe Verbindung mit dem Gelenke, so dass ihr fortwährend kleinere Mengen des übelriechenden Eiters entsickern, der naturgemäss seinen Weg den Beinen entlang nach unten nimmt und die Haare verklebt. Um diese Fistel nun bildet sich ein Tummelplatz der verschiedensten Fliegenarten, die da ihre Eier ablegen, weshalb man in den Fisteln nicht selten eine Unmenge von Fliegenmaden vorfindet.

Befällt nun diese Seuche kleinere Kälber, deren Nahrung noch grossentheils in der Muttermilch besteht, so gehen diese meistens ein, da sie der Mutter nicht mehr zu folgen vermögen. Grössere Thiere, die Gras fressen, haben deswegen auch mehr Aussicht auf Erhaltung ihres Lebens.

Bei dem geringen Werth der Kälber und der beschränkten Ausdehnung der Krankheit begnügt man sich, die Seuche einfach als „Lahmheit“ zu diagnosticiren, ohne sich weiter zu bemühen; die todten Kälber werden kaum gezählt, die lahmen und abgemagerten kommen gleichfalls nicht weiter in Betracht, man kümmert sich nicht darum, wo sie bleiben. Auffallend könnte nur sein, dass bei den ausgeheilten Thieren ein Theil ausserordentlich rasch fett wird; dies erklärt sich aber damit, dass diese Thiere nicht mehr so schnell laufen können wie die Heerde und daher die aufgenommene Futtermenge zum Fettansatz in höherem Grade wie die übrigen verwenden. — Die Krankheit würde also kaum in einem Pest-Vortrag Erwähnung finden können, wenn man sie nicht mit der Bubonenpest identificirt hätte.

Zugegeben aber, dass es möglicher Weise eine Bubonenpest gewisser Kuhrassen geben könnte, so ist doch sofort auf die Thatsache hinzuweisen.

dass die englischen feinen Kuhrassen nicht daran erkranken; wohl aber fand ich das Paleta-Rurú auch bei Durham und Heresforth genau wie bei den einheimischen Kühen. Nun wäre es ja immerhin denkbar, dass die Pesterreger in den Thieren andere Erscheinungen hervorriefen als im Menschen; aber einmal sehen wir bei allen anderen für Pest empfänglichen Thieren, wie Ratten, Meerschweinchen, Affen u. s. w., die so sehr charakteristischen Bubonen auftreten und auch sonst noch mancherlei andere übereinstimmende Merkmale, so dass es also auffallend ist, dass dies gerade bei den Kühen fehlt. Andererseits ist die bei den Kühen sich abspielende Erkrankung eine locale Hauterkrankung, die erst secundär und noch nicht einmal in jedem Falle auf weitere Körpertheile und Organe übergreift. Endlich fehlt auch bei der Pest der Gestank, den der Eiter des Paleta-Rurú verbreitet, der ja so ausserordentlich charakteristisch ist. Ausschlaggebend ist natürlich nur die bakteriologische Untersuchung der Eitermassen und der Organe, die wirklich interessante Ergebnisse an den Tag brachte: Macht man vom Eiter ein Ausstrichpräparat und färbt dasselbe nach Ziehl, so sieht man, wie die ganze Masse aus zertrümmerten Zellmassen, Detritus, zu bestehen scheint, und die Körperelemente scheinen wie zu feinstem Pulver zermalen. Diese Beobachtung haben schon andere Untersucher vor mir gemacht, und erklärte man die Masse für zerfallene Eiterkörperchen. Auffallend ist jedenfalls, dass diese Eitermassen eine Anzahl wohlerhaltener Eiterkörperchen enthalten, die durchaus nichts von Zerstörung zeigen; ferner finden sich diese kleinsten Körnchen schon in ganz jungen Abscessen, ohne dass die zum Zellzerfall nöthige Zeit verstrichen wäre. Es erscheint somit ausgeschlossen, dass es sich hier um Detritusmassen handelt, und wenn wir erst diese Körperchen genauer betrachten, d. h. mit den stärksten Vergrösserungen, so sehen wir, wie sie alle gleichmässig gross und ebenso gleichmässig geformt sind; und wir finden ferner, dass diese Knötchen weiter nichts sind als der kleinste Coccobacillus, der bisher bekannt geworden ist. Der Paleta-Rurú-Bacillus ist etwa $^1/_4$ bis $^1/_2$ Mal so klein als der Influenza-Bacillus, etwas länger als dick, mit leicht abgestumpften Enden; er ist unbeweglich und färbt sich nicht nach Gram. Die Aufnahme des Farbstoffes erfolgt ziemlich langsam, jedenfalls bedeutend langsamer wie bei den Pestbacillen; die centralen Theile erscheinen weniger gefärbt wie die Randtheile, ohne dass es indessen zu einer ausgesprochenen Polfärbung käme wie bei den Pestbacillen. Der beschriebene Bacillus findet sich im Eiter in geradezu zahlloser Menge. In den acuten tödtlichen Fällen finden wir auch im Blut, und mithin auch in den übrigen Organen dieselben Bakterien; doch dürfte deren Aufenthalt im Blut nur ein vorübergehender sein; das eigentlich Typische ist nur die locale Infection.

Mittels Spuren dieses Eiters liess sich die Krankheit auch auf gesunde Rinder übertragen, die nachher dieselben Krankheitssymptome zeigten, wie die anderen an Paleta-Rurú erkrankten Thiere. Die so befallenen Thiere erliegen in fünf bis acht Tagen; und kommt es zur Fistelbildung, so bleiben sie Monate lang krank, ehe die völlige Heilung eintritt. Auch in diesem Falle finden sich im Eiter dieselben Bakterien.

Eine Merkwürdigkeit verdient hier erwähnt zu werden. Von den von mir inoculirten Rindern gingen nur diejenigen zu Grunde, die ich während der tropischen Hitze von 35 bis 40° C. inficirte; von den bei bald darauf eingetretener kühleren Temperatur inoculirten Thieren ging keines mehr ein. Offenbar spielt also das Klima hier eine ausschlaggebende Rolle. Hat sich doch auch ergeben, dass die Krankheit im Süden der La Plata-Staaten nicht mehr vorkommt, und im Norden vorwiegend nur in der heissen Jahreszeit; und so nimmt auch je weiter wir nach Süden kommen, die Sterblichkeit zu.

Den Beweis, dass jene erwähnten kleinsten Körperchen, die in solchen Massen im Eiter sich finden, wirklich Bakterien sind, konnte ich durch Cultur erbringen; und zwar gelang mir dies nach verschiedenen Versuchen durch Anlegung von anaëroben Culturen. Der Paleta-Rurù-Bacillus ist ein ausgesprochener Anaërob. Seine Cultur gelang mir in Bouillon wie auf Agar-Agar. Auf anaëroben Platten habe ich aber trotz vieler Bemühungen keine positiven Wachsthumsergebnisse erzielen können, was auch von der anaëroben Strichcultur zu sagen ist; wohl wachsen dagegen die Bacillen anaërob im flüssigen Rinderserum. Die Culturen in flüssigen Medien sind gleichmässig stark trübe und zeigen beim Oeffnen den gleichen typischen Gestank wie der Eiter. In den Agarculturen kommt es zu kleinsten, grauen, punktförmigen Colonieen. Irgend welche auffallende Gasbildung habe ich nicht wahrgenommen. Auch bei den Agarculturen gilt bezüglich des Geruches das Gleiche wie bei den Culturen in flüssigen Medien.

Aus Vorstehendem ergiebt sich ohne Zweifel, dass die Gebilde Bakterien sind, und zwar die kleinsten bis jetzt bekannten, von einer Kleinheit, dass es mir und dem Photographen der hiesigen Universität, Herrn Prof. Levy, einem Schüler Lumière's, nicht gelang, sie auf photographischem Wege zur Ansicht zu bringen.

Die Weiterzüchtung der Bakterien bereitet zur Zeit noch ausserordentliche Schwierigkeiten. Ueber die 4. bis 5. Generation bin ich noch nie hinausgekommen, da sie im Laufe der Zeit regelmässig eingehen. In dem dem Rinde entnommenen Eiter finden sich häufig die Bacillen des Paleta-Rurú im Gemenge mit anderen Bacillen, doch kann man unschwer eine Reincultur erzielen, indem man etwas Eiter intraperitoneal auf ein Meer-

schweinchen überimpft. Nach dem Tode des Thieres, der in 12 bis 20 Stunden erfolgt, findet man im Herzblut in der Regel eine Reincultur des in Rede stehenden Bacillus. — Ich hatte ferner versucht, durch Verimpfung des Bauchhöhleninhalts des verendeten Meerschweinchens die Krankheit auf ein weiteres Thier zu übertragen; aber auch diese Weise der Fortpflanzung der Cultur versagt bei der 3. bis 4. Passage; denn die Thiere gehen dann nicht mehr ein.

Das Wachsthum der Culturen geht am besten vor sich im Brütofen bei 30 bis 37°, während es bei 20 bis 30° nur langsam und gleichsam zögernd vorwärts geht. Zu ihrer Entwickelung brauchen die Culturen nicht länger als 24 Stunden, in grösseren Kölbchen 2 bis 3 Tage. — Ratten, Mäuse und Kaninchen sind nicht empfänglich für den Bacillus: nur Rind und Meerschweinchen sind bis jetzt nach meinen Beobachtungen die einzigen empfänglichen Thiere.

Auch ein Wort über die Therapie dürfte hier nicht überflüssig erscheinen. Sehr naheliegend erscheint vor allem die Frage nach einem Heilserum oder einem Vaccin. Beide Dinge halte ich für unnöthig und ihre Anwendung für ziemlich erfolglos. Ein Serum wird bei den Eiterabscessen wenig ausrichten, falls es ein bacillentödtendes ist, da es in die abgestorbenen Massen kaum in genügender Menge eindringt. Ein antitoxisches Serum bedürfen wir nicht, da die Culturen keine specifischen Toxine im Sinne Behring's bilden. Bouillonculturen verschiedenen Alters waren völlig ungiftig. — Ein Vaccin ferner erscheint mir schon aus rein äusserlichen Gründen überflüssig, da die Krankheit ja keine solchen Dimensionen annimmt, dass die Unkosten einer allgemeinen Schutzimpfung gedeckt wären. — Wohl aber giebt es ein Mittel, das rasch und sicher die Heilung der erkrankten Thiere herbeiführt, nämlich die breite Incission und Oeffnung der Abscesse, um dem Eiter den Abfluss zu gestatten. Dieser Schnitt kann mit jedem beliebigen Messer ohne Innehaltung der antiseptischen Sicherheitsmaassregeln ausgeführt werden. Hat der Eiter hinreichend Gelegenheit zum Abfluss, so heilt die Wunde in überraschend kurzer Zeit, und das Thier ist gerettet, höchstens dass eine kleine Narbe zurückbleibt. Dies Verfahren ist, gegebenen Falls, um so mehr jedem Estanciero anzuraten, da es keine Kosten verursacht.

Aus all' dem bis jetzt Dargelegten geht zur Evidenz hervor, dass zwischen Paleta-Rurú und Bubonenpest keinerlei Beziehung besteht. Nur die alleroberflächlichste und flüchtigste Beobachtung kann da eine Verbindung sehen. Dass zufälliger Weise bei beiden Krankheiten Anschwellungen gewisser Körpertheile beobachtet werden, berechtigt noch lange nicht, sie für identisch zu halten.

Ein anderer Punkt, der allerdings auch den Bakteriologen etwas stutzig machen könnte, ist die Mischinfection. Untersucht man den aus einer Fistel von Paleta-Rurú heraussickernden Eiter, so findet man neben den Mikrobien des Paleta-Rurú mit Regelmässigkeit eine andere Mikrobenart, die wir entschieden in die Gruppe der Bakterien der hämorrhagischen Septicämie rechnen müssen. Im mikroskopischen Präparat unterscheiden sie sich in Nichts von den Bakterien der Pest; sie sind unbeweglich, entfärben sich nach Gram, auf den üblichen Nährböden finden sich keine Wachsthumsunterschiede u. s. w., so dass man leicht in die Versuchung gerathen könnte, sie für Pestbacillen zu erklären. Von diesem Standpunkte aus könnte die Ansicht der verschiedenen Beobachter in Paraguay, dass es sich bei Paleta-Rurú wirklich um Bubonenpest handelt, einige Wahrscheinlichkeit für sich beanspruchen.

Dass nun Paleta-Rurú als eine selbstständige Krankheit aufzufassen ist, geht leicht aus der Thatsache hervor, dass sich mit dem von mir entdeckten Bacillus des Paleta-Rurú stets diese Krankheit in anderen gesunden Thieren erzeugen lässt. Die hier in Frage kommende Ungewissheit ist nur die, ob die Thiere nicht etwa gleichzeitig an Bubonenpest erkrankt sein können. Dazu kann ich bemerken, dass nach meinen hier im Lande gemachten, immerhin doch schon recht zahlreichen Studien, die herrschende Stellung in der Bakterienwelt einer anderen Klasse von Bakterien eingeräumt werden muss als wie in Europa. Dort sind wir gewohnt, das Bacterium coli commune als allgegenwärtig anzutreffen, in Milch, im Wasser, in Zersetzungsmassen, bei den verschiedenartigsten Krankheiten, Abscessen, Blasenkatarrhen, sogenannten kryptogenetischen Septicämieen, Knochenerkrankungen u. s. w. Bei genauerem Studium hat man dann entdeckt, dass diese Bakterien nicht ganz einheitlich sind, sondern dass wir es mit einer Gruppe nächster Verwandter zu thun haben. Die Mehrzahl der Forscher hat diese für Europa gültigen Sätze einfach auch auf Amerika übertragen. Es ist jedoch durchaus nicht anzunehmen, dass die Bakterienflora Europas und Amerikas identisch sei, und wenn auch mit der Einwanderung von Europa die europäischen Bakterien gleichfalls mit eingewandert sind, so haben diese doch durch ihre blosse Anwesenheit noch nicht die einheimischen Bakterien verdrängt. Die einheimische Bevölkerung ist zwar der Einwanderung erlegen, nicht das Gleiche gilt von den einheimischen Bakterien. Man braucht nur den Darminhalt eines Europäers und eines Menschen zu untersuchen, der lange im Lande gelebt hat, so wird man auf die bemerkenswerthesten Unterschiede in den Bakterienbefunden stossen. Genau so liegen die Verhältnisse bei den Gährungs- und Denitrificationsvorgängen; die Milch beherbergt andere Keime, in den Flüssen und Seeen tummelt sich eine

uns zum grossen Theil noch unbekannte Bakterienwelt. Wann werden wohl diese wissenschaftlichen Schätze gehoben werden? Leider fehlt es noch an Geld und geschulten Arbeitskräften, und es werden noch Jahre vergehen, bis die grossen Länderstrecken so durchforscht sind wie die Bäche und Ströme in Deutschland, Frankreich oder Italien. Aber auch schon die flüchtigste Beobachtung lehrt uns, dass das Bacterium coli nicht die Rolle spielt wie in Europa. Es ist da und hat seine Bedeutung, kommt auch im Darm des Menschen vor, wird aber immer noch zu sehr überschätzt.

Weit wichtiger ist das ovoïde Bacterium mit der ausgesprochenen Polfärbung. In jedem Wasser, in jeder Milchprobe, in der Erde, im Dünger, im Urin, in den Secreten, im Speichel, Eiter von Menschen und Vieh, in der Luft, an den Gebrauchsgegenständen, in jeder Leiche schon bald nach dem Tode, kurz überall ist das ovoïde Bacterium. Jeder, der nur eine Bakterienfärbung gemacht, hat es schon unter seinen Händen gehabt, aber nicht ein Jeder hat den Befund richtig gedeutet. Die Färbung wird zu intensiv gemacht und so das Bacterium coli vorgetäuscht, die Entfärbung nach Gram ist beiden gemeinsam, die Prüfung der Beweglichkeit wird häufig, weil umständlich, unterlassen, und ausserdem lernt man ja in den Lehrbüchern, dass es fast unbewegliche Coliarten giebt. Der Nachweis der Säurebildung ist ebenfalls zu umständlich und fehlt es zudem oft an den nöthigen Hülfsmitteln; den Thierversuch kann man erst recht nicht bei jedem Fall sofort anwenden. Es ist daher leicht begreiflich, dass diese beiden Bakterienspecies mit einander verwechselt werden konnten.

In Bezug auf die Diagnose der Pestbacillen sind wir relativ am besten daran. Wir kennen die specifische Wirkung, die das Pestserum auf die Pestbacillen ausübt, und somit haben wir das ausschlaggebende Mittel in der Hand, jeden pestähnlichen Bacillus auf seine Pesteigenschaft hin zu prüfen. Diese Prüfung muss unter genauer Beobachtung gewisser Vorbedingungen vorgenommen werden, da die aus vielen Krankheitsfällen, einschliesslich der Pest, isolirten Bacillen oft nicht genügend virulent sind und so zu Scheinresultaten führen. Die erste Vorbedingung ist nun, die Virulenz durch Meerschweinchenpassagen bis zum Maximum zu steigern. Nebenher gehen muss zweitens die Controle mit Normalserum. Erst wenn eine Oese (Pfeiffer) der in Frage stehenden Cultur trotz Beigabe von 2 ccm gewöhnlichem Pferdeserum Meerschweinchen tödtet, haben wir genügend virulentes Material. Unter Einhaltung dieser Regeln habe ich dann alle bei Paleta-Rurú vorkommenden ovoïden Bacillen geprüft, ohne dass auch nur ein einziger derselben auf das Pestserum reagiert hätte. Folglich ist dadurch klar und unzweideutig bewiesen, dass die bei Paleta-

Rurú gefundenen ovoïden Bakterien nur Secundarinfectionen hervorrufen, mit der menschlichen Bubonenpest durchaus nichts zu thun haben, ja selbst für Paleta-Rurú ohne besondere Bedeutung sind. Als Schlussfolgerung aus diesen Darlegungen aber ergiebt sich mit zwingender Nothwendigkeit, dass hei den Rindern Südamerikas die Bubonenpest nicht vorkommt. — Gleichzeitig will ich auch hier die Thatsache festlegen, dass der Bacillus der asiatischen Bubonenpest in Südamerika nirgends endemisch ist und dass die Bakterien der Krankheit vom Auslande eingeschleppt sind. Den Weg, den diese Finschleppung zurücklegte, habe ich ebenfalls feststellen können; sie erfolgte nämlich durch drei portugisische Heizer, die mit dem Dampfer Centauro von Montevideo nach Asuncion kamen.

Auf die epidemiologischen Studien näher einzugehen, muss ich hier unterlassen, da dies zu weit führen würde.

Ich gehe nun über zur Darstellung des Sitzes der Pestbacillen im Körper der Erkrankten und Verstorbenen.

Im Allgemeinen kann ich die Angaben früherer Beobachter über Sitz und Verbreitung der Pestbacillen im menschlichen Organismus nur bestätigen. Bei der Bubonenform fanden wir sie im Bubo, bei der Septicämie im Blut und in den inneren Organen, insbesondere in der Milz und in den Lymphdrüsen; bei der Lungenform traten sie in der Lunge auf, sowie im Auswurf. Desgleichen wurden sie in den Pestpusteln der Haut gefunden. Ein Fall, der von meinem Assistenten gelegentlich einer Section beobachtet wurde, ist besonders bemerkenswerth, insofern, als es in der Leber zur Bildung von zahlreichen hirsekorngrossen Eiterknötchen gekommen war, die ebenfalls eine Reincultur von Pestbacillen enthielten.

Wenn sich somit die Angaben früherer Forscher bestätigt finden, so muss ich doch einer Reihe von Besonderheiten Erwähnung thun, die manche Abweichung und zwar recht interessanter Natur darbieten.

Zunächst findet man in den Publicationen von Kitasato und Yersin den Satz, dass der Pestbacillus auffallend leicht und in allergrössten Mengen in dem Buboneninhalt sich nachweisen liesse. Diese Angabe kann ich wenigstens nicht bekräftigen, da ich bei meinen Forschungen eher zur gegentheiligen Ansicht kam. Ich habe den Buboneninhalt in den verschiedensten Stadien untersucht, vom ersten Stadium der entzündlichen Schwellung bis zur vollständigen Vereiterung und dem Stadium der Vernarbung. Nur in seltenen Fällen fand ich geradezu Unmengen von Pestbacillen. Sehr häufig jedoch gelang es nicht, aus der durch Punction gewonnenen Flüssigkeit der Bubonen Pestbacillen nachzuweisen, weder im directen mikroskopischen Präparat noch in der Cultur. Als Culturmedium hat sich noch als am geeignetsten Bouillon erwiesen, mit der sich bessere Resultate erzielen lassen, als wie mit Agar oder Gelatine. Auch in Ausstrichpräparaten

der von Leichen entnommenen Bubonen fanden sich nur selten Pestbacillen. In der Regel gelang der Culturnachweis nur durch Verimpfung von grösseren Bubonenpartikeln in Bouillon. Es ist dies, da dieser Befund sich als Regel erwies, ein sehr bemerkenswerthes Resultat, wenn man die Berichte über die Pest bei Afrikanern und Asiaten dagegen hält. Dieser Beobachtung ist daher entschieden einige Bedeutung beizumessen.

Was ich soeben bei der Bubonenform der Pest bezüglich des schwierigen Nachweises des Vorhandenseins von Pestbacillen sagte, gilt so ziemlich auch bei den inneren Organen, denn auch hier ist die Bakterienvertheilung eine spärliche. Im Blut z. B. fanden sich die Bacillen durchaus nicht so häufig, wie man hätte erwarten sollen; und selbst in der Milz, wo der Nachweis der Pestbacillen relativ noch am leichtesten erlangt wird, war deren Anzahl häufig sehr gering. Es soll damit aber nicht geleugnet werden, dass es auch Ausnahmen giebt, wie die acutesten Fälle gezeigt haben, wo der ganze Körper von Pestbacillen überschwemmt war.

Die geringe Entwickelung der Bakterien im Körper des Südamerikaners, die am ausgesprochensten beim Paraguayer, dem Nachkommen der Indianer, war, aber auch bei den Descendenten der Europäer ganz auffallend ist, lässt darauf schliessen, dass der Organismus des Südamerikaners nur wenig für die Pest disponirt ist, und dem Vordringen der Pestbakterien durch diesen Umstand ein energischer Wiederstand entgegentritt. Dieser Thatsache wird sich Niemand, der so viele einschlägige Untersuchungen wie ich, gemacht hat, verschliessen können.

Es bleibt nunmehr noch übrig, nach der Ursache dieser auffallenden Erscheinung zu suchen. Dass diese in den hygienischen Wohnungsverhältnissen zu suchen sei, ist wohl nicht anzunehmen. Die Einheimischen hier leben durchschnittlich in demselben Schmutz wie die Indier und Chinesen in Asien und die Neger in Afrika. Auch Ratten giebt es hier zu Lande entsetzlich viele, und ihr zahlreiches Sterben hätte die Seuche eher begünstigen sollen. — Wir müssen also den Grund in anderer Richtung suchen; ich glaube diesen auf die verschiedene Lebensweise der Menschen zurückführen zu müssen. Asiaten wie Neger sind vorzugsweise Pflanzenesser, Fleisch ist vielfach unbekannt oder ein nur seltener Genuss. Ganz im Gegentheil hierzu nährt sich der Südamerikaner fast ausschliesslich von Fleisch. Seine Ernährung ist die ungleich rationellere und kräftigere; schon aus dem Grunde erscheint es durchaus nicht wunderbar, dass der Südamerikaner der Pest solch energischen Widerstand zu leisten vermag, und dass es dem Bakteriologen etwas schwer gemacht wird, beim Kranken den Nachweis des Vorhandenseins der Pestbacillen zu führen, oder, um es mit anderen Worten zu sagen, dass es dem Pestbacillus sehr schwer gemacht wird, im Körper des Südamerikaners festen Fuss zu fassen.

Man könnte noch eine andere Erklärungsursache anführen, nämlich: die mangelnde Virulenz der südamerikanischen Pestbacillen; man könnte etwa geltend machen, diese habe durch den weiten Weg von Asien nach Asuncion mit der Zwischenstation Oporto gelitten; ferner: das Klima sei ihrer Entwickelung im Wege; endlich: Boden- und Grundwasserverhältniss seien ihnen ungünstig.

Ich glaube, dass keine dieser aufgeworfenen Einwände in Frage kommt. Dass die Virulenz der Pestbacillen nicht gelitten hat, beweist die ungeheuere Sterblichkeit der Ratten in Folge der Pest. Damit ist zwar an sich noch nichts für die Virulenz dem Menschen gegenüber bewiesen wie ich das vielfach bei den Verwandten des Pestbacillus, den Bakterien der hämorrhogischen Septicämie, nachweisen konnte; indess sprechen auch die acuten Fälle dafür, dass die Virulenz der Pestbacillen für den Menschen sich an sich nicht vermindert hat; doch könnte es sich ja in derartigen Fällen immer noch um einzelne, für die Pest dank irgend welcher Sonderumstände besonders empfängliche Menschen handeln.

Aber ausser dem Argument, das die Ratten liefern, kann ich noch einen anderen Umstand anführen dafür, dass die Virulenz des Pestbacillus gut erhalten ist und in Nichts von dem des indischen Verwandten variirt, und dieser Umstand dürfte ausschlaggebend sein.

Schon vor dem Bekanntwerden der Gottschlich'schen Arbeit[1] hatte mir die Erkrankung eines Mitgliedes der argentinischen Pestcommission Veranlassung zu eingehenderen bakteriologischen Untersuchungen gegeben. Der Thatbestand ist kurz gefasst folgender gewesen. Der Patient kommt gesund in Asuncion an, ist mit der Besichtigung der Pestfälle beschäftigt und klagt bereits nach drei Tagen über etwas Halsschmerzen. Eine Besichtigung der Mundhöhle ergiebt leichte Röthe der hinteren Pharynxwand. In dem davon mit sterilisirter Nadel abgekratzten Schleim finden sich Pestbacillen in beträchtlichen Mengen mit allen für diese charakteristischen Merkmalen. Tags darauf der gleiche Befund. Erst am dritten Tage stellt sich Fieber ein. Der Fall entwickelt sich zu einem typischen Pestfall mit Bubonen, Pneumonie, Septicämie. Während der Erkrankung ist täglich der Auswurf untersucht; es finden sich in demselben massenhaft Pestbacillen, die sich selbst nach vier Wochen noch vorfinden, nachdem der Kranke schon lange Reconvalescent war. Der Fall ist in dreifacher Hinsicht sehr lehrreich. Einmal ist es von Bedeutung, dass bereits vor dem Ausbruch der Krankheit die Pestbacillen nachgewiesen sind. Dieser Befund reiht sich analogen Befunden bei Cholera an, wo man bei scheinbar noch ganz Gesunden im Darminhalt Cholerabacillen gefunden

[1] *Diese Zeitschrift.*

hat, die die Ursache zu dem späteren Ausbruch des Choleraanfalls bildeten. — Zweitens ist es von höchster Bedeutung zu wissen, dass die Pestbacillen sich in Einzelfällen so ausserordentlich lang in der Reconvalescenz lebendig erhalten können, ein Verhalten, ebenfalls ganz analog der Cholera. — Endlich muss uns auffallen die enorme Menge der Pestbacillen im Mundschleim und im Bronchialsecret. Wenn wir bei der Cholera von der fischzugähnlichen Anordnung der Cholerabacillen in den Darmflöckchen sprechen, so habe ich häufig genug Gelegenheit gehabt, ähnliche Bilder im Auswurfausstrich zu sehen. Ganz im Gegensatz zu den sonstigen spärlichen Befunden von Pestbacillen imponirt uns das geradezu massenhafte Auftreten im Auswurf selbst noch beim Reconvalescenten, den die Menge der gebildeten baktericiden Schutzstoffe vor einer Weiterentwickelung der Krankheit bewahrt haben. Die Erklärung hierfür ist aber einfach. Der Auswurf stellt eine todte Materie dar, die Bacillen sind in todte Räume, Schleim und Zellen, eingebettet, die dem Einfluss der Körpersäfte entzogen sind. Daher wird es verständlich, dass die Gegengifte des Körpers hier ohnmächtig sind. Nunmehr können sich die Pestbacillen üppig entwickeln. Es geht daraus klar hervor, dass diese Bakterienart an sich nichts an ihrer Activität eingebüsst hat. Dass sie aber in Südamerika nicht die Gefährlichkeit wie in Asien und Afrika erlangen können, ist, wie schon angedeutet, in der grösseren Widerstandsfähigkeit seiner Bewohner gegen diese Bacillen wahrscheinlich in Folge ihrer besonderen Lebensweise zu suchen.

Das Ergebniss dieser Peststudien hat für den Bakteriologen vieles Neue zu Tage gefördert, und können die vorliegenden Versuchsresultate für die Art der Bekämpfung der Seuche von grosser Wichtigkeit sein.

Viel von meinen hierbei erzielten Erfolgen verdanke ich meinem Lehrer, R. Koch. Dessen Choleramobilisirungsplan hat mir auch bei der Pest ausgezeichnete Dienste geleistet. Was bei der Uebertragung der Cholera die Fäces und die damit verunreinigten Gegenstände bewirken, verrichtet, nach meiner Ansicht wenigstens, bei der Pest der **Auswurf**. Was bedeuten die wenigen Bubonenfälle, was die Ratten bezüglich der Ansteckungsgefahr bei der Pest gegenüber den Millionen und Milliarden von Pestbacillen, die ein Kranker im Auswurf entleert! Genau so gut wie es bei der Cholera eine Infection ohne profuse Choleradiarrhoe und Enteritis giebt, genau so gut finden sich in den inficirten Athmungsorganen des Menschen die Pestbacillen, ohne dass der Kliniker uns eine pneumonische Dämpfung vorzupercutiren braucht. Habe ich doch bei einer weiteren Anzahl von Fällen im Munde die Pestbacillen finden können ohne Pneumonie mit Dämpfungen.

Die wenig positiven Resultate, die die Bekämpfung der Pest in vielen Fällen aufwies, sind meines Erachtens in erster Linie zurückzuführen auf die Nichtbeachtung oder ungenügende Berücksichtigung dieser Verhältnisse. Ging es uns im Anfang der Cholerabekämpfung doch gerade so; ihre Unterdrückung gelang erst dann, als die Untersuchung aller Verdächtigen und der Gesunden, die mit den Kranken zusammen gelebt hatten, streng durchgeführt wurde. Der Erfolg in Stettin und Danzig gab dafür ein geradezu schlagendes Beispiel. Flügge hat uns erst unlängst auf die Gefahr der Bakterienverbreitung vermittelst des beim Sprechen entstehenden Sprühspeichels aufmerksam gemacht. Um wie viel mehr haben wir Veranlassung zu der Forderung, dass bei allen Pestquarantänepflichtigen systematische Untersuchungen der Mundhöhle auf Pestbacillen durchgeführt werden. Es mag immerhin sein, dass wir weniger Procente leicht Inficirter finden als bei Cholera; darum ist aber die Unterlassung dieser Untersuchung noch keineswegs gerechtfertigt.

Neben der systematischen Untersuchung der Quarantänepflichtigen muss auf der anderen Seite streng darauf gehalten werden, Niemand aus dem Hospital zu entlassen, der noch Pestbacillen in sich beherbergt. Eine genaue Durchführung dieser Vorschriften dürfte entschieden grössere Erfolge aufweisen als der immer noch als äusserst wichtig betrachtete Vernichtungskampf gegen die Ratten, die für die Hauptübelthäter bei der Weiterverbreitung der Pest fälschlicher Weise immer noch gehalten werden. Gewiss beherbergen auch diese Pestbacillen; wie wenige von diesen gelangen aber aus dem Körper der Ratten heraus! Und wären die Ratten wirklich so gefährliche Verbreiter der Pest, so würde bei ihrer ungeheueren Zahl in Asuncion von den 35000 Einwohnern keiner mehr am Leben sein.

Auf einen anderen Punct möchte ich noch aufmerksam machen. Ich habe schon oben betont, wie schwierig die Differentialdiagnose mit anderen Bakterien ist. Es gehört grosse Uebung und Erfahrung dazu, den Nachweis zu erbringen, dass man es mit wirklichen Pestbacillen zu thun habe. Ein eingehendes Studium dieser Bakterien auch in Zeiten, wo sie nicht auftreten, kann deshalb nicht dringend genug empfohlen werden. Ohne ein gut ausgebildetes bakteriologisches Personal sind derartige Untersuchungsstudien eben werth- unh aussichtslos.

Es ist selbstverständlich, dass zu den obigen, subtilen Untersuchungen alles heranzuziehen ist, um die Diagnose auf Pestbacillen nach jeder Richtung hin sicher stellen zu können. In zweifelhaften Fällen ist die Pfeiffer'sche Diagnostik immer unerlässlich. Glaubt dann Jemand die Diagnose auf Bubonenpest gegebenen Falls stellen zu können, so möge er sich ja bewusst sein, welch ungeheure Verantwortung er damit über-

nimmt, noch weniger aber sich zu einer derartigen Erklärung verleiten lassen, so lange er seiner Sache nicht absolut und unumstösslich sicher ist. Mir wenigstens hat es grossen Kampf gekostet, ehe der Entschluss in mir gereift war, die in Südamerika bis dahin unbekannte Pest in seinem innersten Centrum als vorhanden zu erklären.

Wenn ich nun zwar im Pestsputum den gefährlichsten und überwiegendsten Verbreiter der Pest sehen möchte, so will ich damit jedoch nicht die Bedeutung der Ratten als Pestbacillenträger etwa als nebensächlich erklären und zwar aus dem einfachen Grunde, weil auch die Ratten sich durch das nämliche menschliche Sputum mit Pestbacillen inficiren, wie die Menschen selbst; die Unschädlichmachung der Ratten erscheint daher sehr wohl geboten. Eine andere Frage aber ist die ihrer Durchführbarkeit im grössern Maassstabe. Ich halte es überhaupt für unmöglich, die Ratten einer ganzen Stadt auszurotten. Die zahlreichen Mittel, die von den verschiedensten Seiten empfohlen sind, leisten gewiss zum grossen Theil Ausgezeichnetes, wenn es sich um die Vernichtung von Ratten eines einzelnen Hauses handelt. Aber nie dauert es lange, so ist wieder Zuzug vom Nachbarhause da, oder von benachbarten Cloaken, Sümpfen, Morästen u. s. w. — Einen Vernichtungskampf im Grossen gegen diese lästigen Nager hatte man in Kopenhagen unter Ertheilung von Prämien ins Werk gesetzt, dem auch wirklich 100000 Ratten erlagen; trotzdem glaube ich, dass bereits jetzt andere 100000 an ihre Stelle getreten sind. In Buenos Aires griff man ebenfalls zu diesem Mittel unter Aussetzung einer Prämie von 20 Cts. für jede Ratte, jedoch mit negativem Erfolge, da nur wenige Tausend Ratten eingeliefert wurden, eine lächerlich geringe Zahl in Anbetracht der gewaltigen Verbreitung der Ratten in dieser Stadt.

Pictolin, Schwefel u. s. w. mögen zwar gute Erfolge bei Schiffssäuberung ergeben, aber darüber helfen sie wenig, in der freien Natur lassen sie uns im Stich. Und gerade von aussen recrutiren immer die neuen Schaaren, und die Vernichtung dieser beispielsweise in der Umgebung der Häfen am Wasser ist eine Hauptforderung.

Die Erfolge der Löffler'schen Mäusevertilgung haben den Gedanken aufkommen lassen, auch mit Rattenseuchen zu arbeiten. Schon der Pestbacillus hat dort, wo die Pest war, furchtbar unter den Ratten aufgeräumt; und trotzdem hat man nicht gehört, dass nun die Ratten ausgestorben wären.

Die argentinische Regierung hat nun den Bacillus von Danys kommen lassen; von der Municipalität in Buenos Aires wurden viele Versuche damit angestellt, doch war der Erfolg nicht befriedigend. Wir hatten dann zufällig eine Rattensterbe im hiesigen alten Schlachthof beobachten können,

und es gelang aus Leichen von Ratten einen Bacillus zu isoliren, der wohl als identisch mit dem von Danys anzusehen ist. Die Versuche damit hatten anfänglich auch nur zweifelhafte Erfolge, was in der mangelnden Virulenz begründet war. Dieser Fehler ist aber leicht zu beseitigen durch Rattenpassagen. Zunächst intraperitonal und nachher subcutan geimpft erlangen die Bakterien bald eine Virulenz, durch die es gelingt, von Thier zu Thier ohne Zwischencultur das Virus zu übertragen. Hierauf kann man zu Fütterungsversuchen übergehen. Agarculturen fressen die Ratten gerne, die Organe der verstorbenen Ratten dagegen nur in äusserster Noth. Ist eine Ratte an der gefressenen Cultur zu Grunde gegangen, dann werden aus ihr neue Culturen angelegt, eine mit Organen gefüttert, und eine andere mit der neuen Cultur. So wird der Virus fortgezüchtet, wobei immer das Bestreben obwalten muss, die Cultur möglichst auszuschalten. Nach einer Anzahl von Fütterungspassagen sterben die weissen Ratten jedes Mal bereits nach einigen Tagen; hier ist die Virulenz maximal und lässt sich auch unbegrenzte Zeit auf derselben Höhe erhalten. Nach dem Unterlassen der Passagen aber nimmt sie schnell wieder ab. Das auf diesem Wege gewonnene Virus ist im Stande, auch weisse Mäuse zu tödten (durch die Unvorsichtigkeit eines Angestellten ist uns damit die ganze Zucht an weisen Mäusen, die wir im Laboratorium hatten, eingegangen). Auch die gewöhnlichen Mäuse und Ratten verenden daran, jedoch nicht in jedem Fall. Nun habe ich späterhin Passagen auch durch graue Ratten gemacht und dadurch in der That einen Virus von maximalster Virulenz erzielt, mit dem man sicher die Ratten ausrotten kann. Von diesem Virus wurden einige Tausend von Litern durch das mir unterstehende Laboratorium hergestellt und vertheilt, und hat der gewünschte Erfolg sich überall eingestellt, was sich, abgesehen von persönlichen Nachforschungen und Mittheilungen auch schon daraus ersehen lässt, dass eine so beträchtliche Nachfrage sich zeigte und noch besteht.

Mit einem derartig präparirten Impfstoff wird es sicher gelingen, der Ratten Herr zu werden, und darf ich wohl auf Grund unserer zahlreichen Versuche mit Bestimmtheit behaupten, dass dies die bis zur Stunde nachgewiesen beste Methode der Rattenvertilgung ist. Aber wie ich schon oben betonte, lässt sich das Mittel immer nur auf einem eng begrenzten Raum, einzelne Häusercomplexe u. s. w. anwenden, und ich glaube, es gehört zu den Unmöglichkeiten, eine Stadt von der Ausdehnung wie Buenos Aires rattenfrei zu machen. — Meiner Ansicht nach ist es ungleich aussichtsreicher, zu verhindern, dass die Ratten zum Pestbacillus gelangen; dann werden sie auch weniger gefährlich sein.

Allerdings hat auch dieses Vertilgungsmittel der Ratten seine Schattenseite und zwar bei einer Epidemie. Der Laie weiss nämlich nie, ob die

Thiere am Ratten-Virus oder bereits an der Pest zu Grunde gehen. Nicht einmal bakteriologisch lässt sich das sofort feststellen. Denn beide Bakterien sehen sich äusserst ähnlich, nur durch das Bewegungsvermögen unterscheidet sich der Rattenbacillus unzweideutig vom Pestbacillus. Dr. Kolle hat in der Zeitschrift für Hygiene über Versuche mit dem Virus Danysz berichtet, er ist dabei zu wenig befriedigenden Resultaten gekommen. Ich möchte, um meine entgegengesetzten guten Resultate erklärlich zu machen, hier ganz besonders betonen, dass Kolle nur im Laboratorium gearbeitet hat, meine Versuche aber 1000fach in der Praxis gemacht sind. Es hat sich dabei mit Sicherheit ergeben, dass die Ratten verschwinden und möchte ich betonen, dass in den Laboratoriumsversuchen ein Factor ganz ausser Acht gelassen ist. „Die Ratten verlassen das sinkende Schiff" ist ein Sprüchwort, was ganz gewiss seine Berechtigung hat. Die Ratte ist ein äusserst intelligentes Thier und steht es bestimmt fest, dass die Thiere sich verziehen, wenn ihnen Gefahren drohen und so auch beim Vernichten derselben mit Rattenbacillen. Wenn erst einige Thiere todt sind, ist es ganz sicher, dass sie sich verziehen und es vergehen Wochen, bis sie wiederkommen. Diese Thatsachen spielen in der Praxis eine äusserst wichtige Rolle und soll man stets im Auge behalten. Auch hier ist die Praxis anders, als das Experiment im Laboratorium.

Zum Schluss muss ich noch einige Daten über die Massnahmen mittheilen, die für den persönlichen Schutz ergriffen wurden.

Bei den engen Beziehungen, die zwischen Argentinien und Paris herrschen, war die Benutzung des Pariser Pestserums etwas Selbstverständliches. Leider bereitete es uns grosse Enttäuschungen. In Asuncion stand uns ein kleineres Quantum von diesem Serum zu Gebote, seine Anwendung bei den Kranken liess aber keinerlei Erfolg wahrnehmen; als prophylacticum war es vollends von nachtheiliger Wirkung. In einem Falle vermochte es nicht einmal einen Impfschutz von 3 Tagen zu erzielen, in welchem Falle zudem gänzlich die Möglichkeit ausgeschlossen war, dass der betreffende Patient zur Zeit der Schutzimpfung bereits inficirt war. In einem anderen Falle erzeugte diese Impfung Fieber von 40°, verbunden mit entsetzlichen Schmerzen, Anschwellung aller Glieder und Exanthem über dem ganzen Körper, ein Zustand, der längere Zeit anhielt. In einem weiteren Fall kam es sogar in Folge der Serumimpfung zu einem ausgesprochenen Bubo in der Seitenbeuge. Eine Erklärung dieser schrecklichen Wirkungen finde ich nur in der Annahme, dass das verwendete Blut von den Pferden zu frühzeitig abgenommen wurde, d. h. zu einem Zeitpunkte, in dem die Toxine noch nicht vollkommen ausgeschieden waren und sich die Immunkörper noch nicht hinreichend gebildet hatten. Eine andere Erklärung ist wohl kaum möglich. Doch wird dieser Fall leicht begreiflich,

wenn man berücksichtigt, dass damals die ganze Welt Pestserum verlangte, und die Productionsstätte hinwiederum gerne allen Forderungen entsprechen wollte. Bei der in Deutschland angenommenen Controle Seitens des Staates hätte dies allerdings kaum vorkommen können.

Ich will an dieser Stelle bemerken, dass, wohl in Folge meiner Beschwerden, späterhin ein Serum geliefert wurde, das entschieden bessere Erfolge aufwies. Immerhin muss aber noch darauf hingearbeitet werden, die Immunstoffe des Serums mehr zu concentriren; denn erst Dosen von 100 bis 150 ccm, und noch dazu intravenös eingeimpft, liessen deutlich sichtbare Erfolge erkennen.

Nachtrag.

Wie vorauszusetzen war, kam die Pest auch nach Argentinien, wo die Regierung alles dagegen that, was in ihren Kräften stand; und es gelang ihr so, das Land wieder seuchenfrei zu machen, allerdings unter Aufwand von $^1/_2$ Million Pesos.

Im Jahre 1899 sind laut Jahresbericht der Gesundheitsbehörden in Argentinien folgende Fälle von Pest beobachtet worden:

Asuncion (Paraguay)	145
Rosario de la Santa Fé . . .	109
Buenos Aires	118
	372

Es mögen zwar immerhin einzelne Fälle verheimlicht worden sein, im Allgemeinen dürften diese Daten aber doch stimmen.

Im folgenden Jahre sind noch Fälle in Buenos Aires, Rosario, San Nicolas, Belle Ville und Cordoba u. s. w. beobachtet; eine genaue Statistik darüber liegt noch nicht vor, keinen Falls aber ist eine hohe Ziffer erreicht worden.

Erwähnt mag ferner noch werden, dass die Krankheit mit Vorliebe Getreidespeicher und Mühlen befiel, was sich aus der Rolle, die die Ratten bei Verbreitung dieser Seuche inne haben, leicht erklären lässt.

In der Desinfectionstechnik wurde auf meine Veranlassung hin an Stelle der vordem angewandten Schwefelräucherung die Desinfection mit Formaldehyddampf in Anwendung gebracht, die befriedigende Resultate ergab.

Sobald die ersten Pestfälle in Rosario und Buenos Aires auftraten, fing ich an, das Haffkine'sche Vaccin nach der von Pfeiffer und Kolle angegebenen Modification darzustellen. Ihre praktische Anwendung scheiterte Anfangs an dem Misstrauen der Aerzte und Laien gegen die Ungefährlichkeit derselben. Nachdem aber dieser Bann gebrochen war,

wurde dasselbe immer wieder zur Anwendung gebracht bei allen Personen, die sich freiwillig impfen liessen, und zwangsweise bei solchen, die mit Pestkranken in Berührung gekommen waren. Bei all diesen Geimpften wurde, soviel mir bekannt, nachher kein Pestfall beobachtet, während bei anderen Quarantänepflichtigen, die, sei es durch Zufall oder in Folge anderer Umstände nicht geimpft worden waren, immer noch das Auftreten einzelner Neuerkrankungen constatirt werden konnte.

Ich kann daher, zumal da die Impfung durchaus ohne Beschwerden ertragen wird, wirklich nichts Nachtheiliges gegen diese Methode vorbringen; soweit man einen Erfolg erwarten konnte, trat er offenkundig ein, so dass also kein Grund vorliegt, die Impfungen zu unterlassen. Hierorts wird man nach diesen Erfahrungen unverzüglich an die Ausführung derselben herantreten, sobald die ernste Nothwendigkeit dies erheischen sollte.

Ein definitives Urtheil jedoch dürfte in Anbetracht des immerhin noch zu geringen Materials als verfrüht erscheinen.

Officiell zwar ist die Pest in Südamerika verschwunden; aber erst kürzlich wurde durch die Tagespresse das Auftreten vereinzelter Fälle von Bubonenpest sowohl in Rio de Janeiro wie in Asuncion gemeldet. Ob sie noch weiterhin sich ausbreiten wird, vermag Niemand zu sagen; ausgeschlossen leider ist dies keineswegs.

Das Mal de Caderas.

Von

O. Voges,
Buenos Aires.

(Hierzu Taf. V.)

Unter dem Namen Mal des Caderas versteht der Südamerikaner eine bei Pferden beobachtete Krankheit, welche der Laie nach dem Hauptsymptom der Paraplegie der Hüften Mal de Caderas, Erkrankung der Hüften, benannt hat. Es ist das eine ziemlich willkürliche Bezeichnung, da sie nur das Auftreten eines einzigen gesonderten Krankheitssymptoms betont, welches noch dazu nicht einmal constant ist, und hat diese Benennung sogar Veranlassung zu einem bedenklichen thierärztlichen Irrthum geführt, wobei von dieser Seite alle nicht mit Hüftlähmung verbundenen Krankheitsfälle als Anämie der Pferde aufgeführt wurden. Trotzdem nun aber der Name nicht eigentlich das Wesen der Krankheit ausdrückt, halte ich es doch für nicht richtig, ihn zu wechseln, da jeder Laie weiss, was man mit dieser Bezeichnung sagen will, jede neue auf wissenschaftliche Beurtheilung sich stützende Benennung aber höchstens erst nach Jahren sich Bahn brechen würde. Ich ziehe es aus diesem Grunde vor, bei der alten Benennung Mal de Caderas zu bleiben.

Sehen wir nun einmal zu, was es für eine Krankheit ist.

In den folgenden Zeilen werde ich zunächst auf die geographische Verbreitung, dann auf die historische Entwickelung eingehen, weiterhin interessiren uns die klinischen und pathologisch-anatomischen Beobachtungen. Daran muss ich Bemerkungen über die Epidemiologie knüpfen, über Morbilität, Mortalität, sowie zeitliche und örtliche Einflüsse, die bei der Krankheit beobachtet werden müssen. Dann werde ich die Aetiologie

der Krankheit besprechen, den Nachweis des Erregers derselben, seine Stellung in der Reihe der Krankheitserreger, seine Infectiosität für Pferde und andere Thiere. Endlich muss ich über Versuche berichten, die ich angestellt habe, um die Krankheit epidemiologisch zu bekämpfen oder therapeutisch zu beeinflussen.

Ich beginne diese Studien nicht, ohne die Arbeiten meiner Vorgänger zu nennen. In der neuesten Auflage von Friedberger-Fröhner findet sich auf S. 737 eine ganz kurze Mittheilung über Cadeiras-Krankheit. „Unter diesem Namen hat Rebourgeon[1] eine Pferdekrankheit in den äquatorialen Provinzen Brasiliens beschrieben, welche mit Steifigkeit im Hintertheil, Petechien in den Conjunctiven, Trismus, gesteigerter Reflexerregbarkeit u. s. w. verlaufen soll. Bei der Section findet man die Psoasmuskeln wie gekocht, die Pia mater serös infiltrirt. Das Wesen der Krankheit ist bisher nicht genauer erforscht."

Unter dem Titel „El Mal de Caderas, contribución al estudio de esta enfermedad", veröffentlichte im Jahre 1899 der argentinische Thierarzt M. Lecler seine im Auftrage des Landwirthschaftsministeriums angestellten Studien und Experimente.

Er bespricht in der Arbeit die allgemeinen Charakteristica der Krankheit, das klinische Bild der natürlichen Krankheit beim Pferd, die hauptsächlichsten Läsionen, die Resultate seiner experimentellen bakteriologischen Forschungen. Man kann diese Arbeit als eine bedeutungsvolle bezeichnen, insofern als sie nur über die mannigfachsten klinischen pathologisch-anatomischen und epidemiologischen Fragen Aufschluss giebt. In ätiologischer Beziehung ist dem Verfasser leider ein Irrthum untergelaufen, da er ein in die Gruppe der Coli-Bakterien fallendes Mikrobium als Ursache des Mal de Caderas annimmt, während wir noch kennen lernen werden, dass dieser Bacillus nichts mit dem Wesen der Krankheit zu thun hat. Im Laufe der Arbeit werde ich noch auf die Studien Lecler's wiederholt zurückkommen müssen.

Bei meinem Eintritt in meine jetzige Stellung als Chef des bakteriologischen Instituts der National-Regierung Buenos Aires fand ich die von meinem Vorgänger Dr. Malbran im Verein mit dessen Assistenten, dem Thierarzt Zabala, begonnenen Studien über Mal de Caderas vor. Die Resultate dieser Studien sind bis heute nicht veröffentlicht. Als wesentlichsten Fortschritt konnte ich aber anerkennen, dass man die Krankheit mittels Blut eines kranken Thieres auf gesunde Pferde u. s. w. übertragen konnte. Das Wichtigste, der Erreger der Krankheit, war nicht gefunden. Ich habe diese Studien seither weiter fortgeführt und unter-

[1] *Recueil vét.* 1889. (Original war mir nicht zugänglich.)

lasse nicht zu betonen, dass mein Assistent Zabala mich dabei fleissig unterstützt hat.

Von dem Resultat meiner Studien wurde meine vorgesetzte Behörde immer durch Spezialberichte in Kenntnis gesetzt.

Unabhängig von diesen Studien, die ich hier für den deutschen Leser im Zusammenhang mittheile, ist in jüngster Zeit in den Anales de la sociedad rural argentina 30 de Junio de 1901 eine kurze Mittheilung von Dr. M. Elmassian, dem vom Institut Pasteur nach Paraguay berufenen Bakteriologen, erschienen, die in kurzen Zügen einige klinische Daten giebt, aber dadurch bedeutungsvoll ist, dass Elmassian den Erreger der Krankheit gesehen hat und ihn mikroskopisch beschreibt. Die Resultate desselben decken sich absolut mit den meinigen. Er ist unabhängig von mir zu dem gleichen Resultat gekommen, wodurch die Richtigkeit meiner Auffassung nur eine Kräftigung erfahren muss.

So weit die einschlägige Litteratur, ob noch anderweitige Arbeiten vorliegen, ist mir nicht bekannt geworden.

Unter Zugrundelegung der Studien der oben erwähnten Forscher, sowie auf Grund meiner eigenen vielfachen Nachforschungen komme ich zunächst nunmehr auf die geographische Ausbreitung der Seuche zu sprechen. Die Krankheit umgreift die centralen Theile Südamerikas. In der Republik Argentinien begegnen wir ihr im nördlichen Theil der Provinz St. Fé, in der Provinz Corrientes in den Territorien Formosa und Misiones. Sie dehnt sich dann in dem ganzen unter dem Namen Gran chaco bekannten Gebiet aus, soweit dort Pferde vorkommen. Ebenso begegnen wir ihr im Norden der Republik Uruguay. Sie ist zu Hause in den verschiedensten Theilen von Paraguay. Nach Lecler kommt sie auch in den argentinischen Provinzen Yujuy, Santiago del Estero und Tucuman vor. Ueber die ersten beiden Provinzen liegen mir keinerlei persönlichen Erfahrungen vor, allein in Tucuman habe ich an Ort und Stelle selbst viele Nachforschungen angestellt, die ergeben haben, dass die Seuche dort unbekannt ist. Ich weiss daher nicht, worauf Lecler seine gegentheiligen Angaben stützt. — Nach anderen Nachforschungen soll das Mal de Caderas auch im Norden von Chile vorkommen, auch darüber sind die Nachrichten nicht sicher genug verbürgt. Nach Norden zu begegnen wir der Krankheit in ganz Bolivien, und greift sie über auf das Gebiet von Brasilien nach dem Matto-Grosso.

In all den genannten Ländern giebt es weite Länderstrecken, in denen die Seuche nicht auftritt, daneben giebt es aber grosse Distrikte, in denen die Seuche so heftig grassirt, dass das Halten von Pferden geschweige denn die Aufzucht derselben zur Unmöglichkeit geworden ist. So berichtet der Naturforscher Anisits in Asuncion, dass er bei seinen

Durchquerungen der innersten Theile des centralen Südamerikas häufig in Gegenden kam, in denen die Leute auf Ochsen reiten, weil die Pferde allesammt dahinsterben, ein Nothbehelf, zu dem der pferdeliebende Gaucho gewiss nur in äusserster Verlegenheit greifen konnte. So wird es verständlich, dass in diesen Gegenden die Rindviehzucht aufgegeben werden konnte, weil es an Pferden mangelte, um die grossen halbwilden Heerden zusammenzuhalten.

Wie weit diese Seuche nach dem Norden hinaufreicht, konnte ich bei jedem Mangel an Verbindungen nicht feststellen.

Wenn ich nun auf die historische Entwickelung der Krankheit übergehe, so können wir wohl annehmen, dass diese Krankheit von jeher in Amerika heimisch war.

Eine genauere Angabe finde ich in der Schrift von Dr. J. B. de Lacerda: O. Microbio do Beri beri Rio de Janeiro 1887. Der Autor widmet dem Mal de Caderas mehrere Capitel, in dem er die Frage ventilirt, ob diese Krankheit mit dem Beriberi identisch sei. Er erhielt Organe aus bem Matto-Grosso, züchtete daraus einen Bacillus, der gewiss nicht die Ursache der Krankheit ist, ein Irrthum, der entschuldbar ist, wenn man die weite Reise berücksichtigt, die diese Organe machen mussten, in welcher Zeitdauer der Erreger der Krankheit längst abgestorben war. Die Mittheilungen Lacerda's bieten aber ein statistisches Interesse insofern, als er erwähnt, dass der Züchter Luiz Calandrini aus Marajó im Matto-Grosso bereits am 16. Juli 1863 im Diario do Gram Pará eine sorgsame Beschreibung der Krankheit giebt, nachdem er bereits 1842 an die Veterinärschule zu Lissabon und Alfort, und 1862 auch nach Wien und Berlin Mittheilungen geschickt hatte. Damit ist bewiesen, dass die Krankheit schon sehr lange bekannt war, aber man hat ihr in Europa nicht die nöthige Beachtung geschenkt.

Klinische Beobachtungen.

Ueber eigene Beobachtungen von Spontanausbrüchen der Krankheit in den verseuchten Ländern verfüge ich nicht. Das Material, mit dem meine Studien angestellt sind, stammt von einem Pferde, welches vor einigen Jahren von einem argentinischen Arzte von dem argentinischen Departement Formosa nach dem hiesigen Laboratorium gebracht war. Ueber die Fortpflanzung dieses Virus werde ich noch unten berichten. Dadurch, dass ich aber Gelegenheit gehabt habe, mit vielen Leuten, die die Seuche genau kennen, wie z. B. Dr. Kammerich, Anisits u. a. m. zu sprechen und ihre Ansichten zu sammeln, und dadurch, dass ich damit

das vergleichen konnte, was in den oben erwähnten Abhandlungen sowie in Berichten der Tagespresse erschienen ist, ist es aber nicht möglich, sich ein genaueres Bild der Krankheit su machen. Aus all den Beobachtungen geht übereinstimmend hervor, dass das Vorhandensein der Krankheit und die Diagnose derselben erst im spätesten Verlauf gestellt wird, wenn erst der ganze Symptomencomplex das klinische Bild fertig darbietet. Nach Ansicht der Laien dauert die Krankheit wenige Tage oder wenige Wochen, geht man den Sachen aber auf den Grund, so kommen wir zu ganz anderem Ergebniss. Da das Bild der künstlich reproducirten Krankheit in seinen letzten Stadien vollkommen dem Bild der spontanen Krankheit entspricht, erscheint es weit zweckmässiger, die allmähliche Entwickelung von ihren Anfängen an zu verfolgen.

Nachdem die Infection erfolgt ist, beobachtet man in den ersten Tagen nach derselben nichts. War das Infectionsmaterial (Blut eines kranken Pferdes) steril, d. h. bakterienfrei, so trat nicht einmal nach intravenösen Injectionen von 5 bis 20 ccm Blut eine fieberhafte Reaction auf. In der Regel trat aber nach derartig hohen Dosen am 4. bis 5. Tage nach der Infection ein Fieber ein, welches am Abend des 4. bis 5. Tages allmählich von Stunde zu Stunde ansteigt, um entweder am folgenden Morgen etwas zu remittieren oder aber ohne Unterbrechung bis auf 40 bis 41° C. sich zu erheben. Im Laufe des folgenden Tages fällt die Temperatur allmählich bis zur Norm oder fast zur Norm und erreicht in der Regel am 2. Tage ihren tiefsten Stand. Nun sehen wir die Temperatur abermals Tag für Tag emporklettern, um nach 5 Tagen wiederum über 40° C. emporzuschnellen. Dieses Spiel der Temperaturen wiederholt sich 2, 4 ja 6 bis 8 und mehr Male. Zwischen den Gipfelpunkten zweier Temperaturzacken liegt immer ein Zeitraum, der zwischen 3 bis 6 Tagen (als Norm) schwanken kann. Ich will dieses somit schon gut charakterisierte Stadium als erstes Stadium der Krankheit bezeichnen. Sehen wir uns, bevor ich die Temperaturbewegungen des zweiten Actes des langen Dramas, denn dass ist es in der That, bespreche, nach weiteren Erscheinungen um. Das ganze Krankheitsstadium entgeht in der Regel dem Laien vollkommen. Das Körpergewicht der Thiere nimmt nicht oder höchstens ganz unwesentlich ab. Ja, wir verfügen über Fälle, wo dasselbe, wenn die Thiere nicht mehr arbeiteten und gutes Eutter bekamen, sogar nicht unbedeutend anstieg. Puls und Athmung sind normal, höchstens in der Acme des Fiebers ein wenig frequenter.

Der Appetit ist ebenfalls keineswegs gestört, nur der aufmerksamste Beobachter bemerkt eine Verminderung am Abend wo das hohe Fieber besteht. Ein Symptom welches allmählich auffällt, ist das gesteigerte Durstgefühl. Ausgeprägt ist dieses aber keineswegs bereits in den An-

fangsstadien, es entwickelt sich erst ganz allmählich und ist hauptsächlich von Wichtigkeit im zweiten Stadium.

Der Koth, ist in der Regel normal, dagegen findet man in einzelnen aber immerhin seltenen Fällen eine Beimischung von Blutcoagula, das aber schon nach einmaligem Erscheinen verschwinden kann. Der Urin bietet vielfache Abweichungen von der Norm dar. Wir sehen ihn nach Auftreten einer Fieberattaque plötzlich dunkelroth blutfarbig, das rührt her vom Blutfarbstoff, dem oft massenhaft aufgelösten Hämoglobin der rothen Blutkörperchen. Diese Hämoglobinurie ist aber vorübergehend, häufig nach einem Tage schon verschwunden; sie kann später wiederkehren. Im Ganzen ist ihr Auftreten aber nur sehr selten. Es giebt Fälle, in denen überhaupt nie während des ganzen Krankheitsverlaufes Hämoglobinurie auftritt. Bei Pferden, die im Camp laufen, entgeht diese Erscheinung in der Regel der Beobachtuug gänzlich. Man beobachtet aber bald nach Einsetzen des ersten Fiebers das Auftreten von rothen Blutkörperchen im Harn, die fast constant, manchmal sehr reichlich, an anderen Tagen weniger zahlreich vorkommen. Das Bewegungsvermögen der kranken Thiere hat Anfangs keineswegs gelitten. Erst gegen Ende der ersten Periode macht sich eine gewisse Schwäche geltend. Man kann die Thiere fahren und auch beim Reiten gewahrt man nicht, dass sie krank werden, höchstens dass man das Gefühl hat, dass die Thiere etwas weniger lebhaft unter dem Sattel sind und manchmal träger erscheinen.

Die geistigen Functionen des Thieres haben in keiner Weise gelitten. Gehör und Gesicht sind normal.

Dar Haar bleibt glatt und glänzend, und trifft die Erkrankung in die Zeit des Haarwechsels, geht dieser ebenfalls ganz normal vor sich, ohne dass das Gleichgewicht des Lebens dadurch irgendwie erheblich beeinflusst würde.

Alle Reflexe sind wohl erhalten und erfolgen der Norm entsprechend.

So weit über die klinischen Thatsachen, die sich während der ersten Periode der Krankheit abspielen. Beherrschend ist der intermittirende Fieberverlauf, dem gegenüber alle übrigen Symptome in den Hintergrund treten. Es wird darum verständlich, warum dem Laien meist die Erkennung der Krankheit entgeht, die aber für den aufmerksamen Beobachter keineswegs schwierig zu erkennen ist.

Der Uebergang in das zweite Stadium der Krankheit ist ein ganz allmählicher. Auch hier ist das Fieber bestimmend. Der intermittirende Charakter desselben verwischt sich, je näher wir uns dem Ende der Krankheit nähern, immer mehr. Die Exacerbationen erreichen nicht mehr solche Höhe, ein Anstieg auf 40° und 41° C. gehört zu den Ausnahmen, ja Seltenheiten. Noch bemerkenswerter sind die Remissionen, diese sind

ebenfalls weniger ausgesprochen, wie im Beginn. Nur äusserst selten bleibt die Morgentemperatur, wie es doch die Norm anzeigt, unter 38°. Erst kurz vor dem Tode ändert sich dieses. Im Grossen und Ganzen schwankt die Temperatur zwischen 38·5° bis 39.8° C. Unter Berücksichtigung der Ursache dieser Krankheit, auf die wir noch zu sprechen kommen, hätte man erwarten sollen, dass in der zweiten Hälfte der Krankheit die Temperatur gleich hohe oder womöglich noch höhere Anstiege aufwiese, da das den natürlichen Heilungsmodus darwiese. Das gerade Gegentheil muss auffallen und bedarf der Erklärung, die meines Erachtens nach nur darin gefunden werden kann, dass die Wiederstandskräfte des kranken Thieres so weit herabgesetzt sind und täglich mehr herabgesetzt werden, dass es sich nicht mehr zu einer energischen Gegenreaction aufzuraffen vermag. Bei sorgsamer Beobachtung sieht man das auch dem Thiere äusserlich an. Die Thiere werden energielos, gleichgültig gegen das, was in ihrer Umgebung vorgeht. Sie lassen den Kopf nachlässig herunterhängen, die ganze Haltung des Körpers hat die Spannung verloren und wird zunehmend schlaffer. Auf Anrufen reagiren die kranken Thiere nur langsam und selbst die bösartigsten und wildesten Pferde schlagen und beissen nicht mehr. Zu diesem Zustande trägt auch wohl die progressive Abmagerung bei, die bis zum Tode 100 Kilo und mehr betragen kann, obwohl das Thier immer normal frisst, wenigstens bis auf die letzten Tage. Diese Abmagerung lässt sich selbst durch reichliches und bestes Kraftfutter nicht aufhalten. Das stark vermehrte Durstgefühl, welches wir schon im ersten Stadium beobachteten, hält auch jetzt noch an und ist häufig noch bedeutend vermehrt.

Proportional der zunehmenden allgemeinen Körperschwäche sehen wir eine langsam auftretende, aber bis zum Ende des Lebens zunehmende Herzschwäche. Der Herzmuskel vermag die ihm obliegende Blutbewegung nicht mehr zu bewältigen, und kommt es zu Stauungen und damit zu Oedemen. Diese nehmen an den Beinen, besonders den Hinterbeinen, manchmal ganz gewaltige Dimensionen an, wie bei Elephantiasis. Aber auch unter dem Bauch treten bedeutende Oedeme auf, bei Wallachen und Hengsten auch in der Harnröhre und dem Harnröhrenschlauch sowie dem Scrotum. Man kann in der Regel das Auftreten von Oedemen als den Anfang vom Ende bezeichnen.

Das Haar verliert allmählich seinen Glanz und legt sich weniger glatt an.

Die Sensibilität ist in vielen Fällen derart herabgesetzt, dass sich ganze Fliegenscharen ungestraft auf dem Thier aufhalten können, ohne dass das Thier auch nur einen Versuch macht, sie abzuschütteln oder

mit den Beinen nach denselben zu schlagen. Auch die Reaction auf Nadelstiche ist bedeutend herabgesetzt.

Es giebt jedoch, wenn man viele Thiere beobachtet, eine ganze Reihe von Thieren, bei denen bis zuletzt die Reflexerregbarkeit nur unbedeutend oder fast gar nicht gelitten hat, so dass dieses Symptom kein constantes genannt werden kann.

Die Respirationsorgane nehmen keinen wesentlichen Antheil an der Erkrankung, ebenso wenig scheint die Verdauung gestört, denn die Kothbildung geht normal vor sich, so dass selbst Maiskörner gut verdaut werden.

Wenn wir im ersten Stadium der Krankheit die Hämoglobinurie auftreten sahen, so ist diese im zweiten Stadium nicht vorhanden oder doch höchst selten. Dagegen fehlen die rothen Blutkörperchen im Harne selten oder nie. In Folge der reichlichen Wasseraufnahme ist die Urinmenge vermehrt und uriniren die Thiere häufiger.

Dafür, dass die kranken Thiere besondere Schmerzen litten, haben wir keinerlei Anhaltspunkte gewinnen können.

In einer Reihe von Fällen bietet der Gang ganz bemerkenswerthe Abweichungen von der Norm. In Folge der Schwäche schleppen sich die Thiere nur langsam vorwärts. In einzelnen Fällen, es bildet das aber durchaus nicht die Regel, gleicht der Gang vollständig dem eines gänzlich betrunkenen Menschen, die Thiere taumeln und verlieren das Gleichgewicht, schwanken derartig hin und her, dass sie jeden Augenblick umzufallen drohen und auch thatsächlich umfallen. Es fällt den Pferden dann oft schwer, sich wieder zu erheben, und bei den vergeblichen Anstrengungen dazu ermatten sie derart, dass sie in 24 Stunden sterben. Zieht man dagegen die Vorderbeine nach vorn und hilft durch Ziehen am Schwanz nach, so erheben sie sich und können oft noch 8 bis 14 Tage und länger leben. Beim liegenden Thier tritt natürlich bald Decubitus ein, wodurch die Situation derartig complicirt wird, dass das Ende beschleunigt wird. Diese Phänomene sind aber keineswegs charakteristisch für alle Thiere. Es giebt genug Thiere, die bis zum letzten Moment ruhig gehen und stehen, erst zuletzt umfallen und dann gleich sterben. Die Missachtung dieser Verhältnisse hat thierärztlicherseits zu dem verhängnissvollen Irrthum geführt, dass diese Fälle nicht für Mal de Caderas gehalten sind, sondern als Anaemia gravis angesprochen wurden. Der ganze Symptomencomplex, den wir bei längerer Beobachtung bemerken, sowie vor Allem der bei diesen Thieren zu findende Erreger schliessen jeden Zweifel aus, dass auch diese Krankheitsfälle als Mal de Caderas zu diagnosticiren sind.

Vor dem Eintritt des Todes zeigt die Temperatur ganz ausserordentliche Schwankungen. In einzelnen Fällen können die Temperatur-

bewegungen vom Morgen bis zum Abend zwischen 34 bis 39° betragen. Die Curve wird so zackig wie die ausgesprochenste Sepsiscurve. In anderen Fällen sehen wir wieder die Temperatur lytisch abfallen von 39 auf 36 bis 34°, wo dann der Tod eintritt, selten ist, dass der Tod auf der Höhe eines Fiebers eintritt.

Die ganze Krankheitsdauer umfasst verschieden lange Zeiträume, welche bedingt sind durch die verschiedene Widerstandsfähigkeit der Thiere. Unser Material bestand zumeist aus ausrangirten Polizeipferden, die meist ein zweifelhaft hohes Alter hatten, ausgesprochene Arteriosclerose zeigten, lahm und entsetzlich abgemagert waren. Da haben wir Fälle gehabt, wo nach 14 Tagen schon der Tod eintrat. In anderen Fällen, wo die Pferde jünger und fett waren, dauerte die Krankheit bei Weitem länger. Wir haben Pferde gehabt, die erst nach vier Monaten eingingen.

Ich könnte hier noch einige Daten über Morbidität und Mortalität geben, ziehe es aber vor, zunächst die pathologische Anatomie mitzutheilen wie wir sie an der Leiche beobachtet. Seciren wir ein in dem letzten Stadium der Krankheit getödtetes Thier oder ein spontan eingegangenes direct nach erfolgtem Eintritt des Todes, so bemerken wir äusserlich an der Leiche die schon beschriebenen Oedeme und in der Regel auch ein struppiges Haar. Die Haut lässt sich nur schwer abziehen, da das darunterliegende Fleisch in der Regel sehr trocken ist und manchmal die höchsten Grade der Austrocknung annehmen kann, ähnlich denen, die man bei Choleraleichen beobachtet. Nach Eröffnung der Brusthöhle findet man in derselben ein oft mehrere Liter betragendes seröses, gelbes, meist klares oder höchstens mässig getrübtes Exsudat, welches mikroskopisch eine Anzahl rother und weisser Blutkörperchen enthält. Auf den Pleuren bemerkt man fibrinöse Auflagerungen, die manchmal reichlicher, in anderen Fällen dagegen nur spärlich sind. Die Lungen selbst bieten keine pathologischen Veränderungen dar, sie hängen freibeweglich im Brustraum. Der Herzbeutel ist prall gefüllt mit einer reichlichen Menge Exsudates, welches dieselbe Beschaffenheit hat, wie das der Pleura. Die Flüssigkeitsmenge kann ganz beträchtliche Grade annehmen. Der Herzmuskel selbst ist normal oder etwas dilatirt, der Herzmuskel ist, wie auch viele andere Muskeln, häufig mehr oder weniger blass. Auf demselben kann man ebenfalls Fibrinablagerungen constatiren. Die Lymphdrüsen der Pleura sind oft leicht vergrössert.

In der Bauchhöhle fällt ebenfalls das oft reichliche Exsudat auf welches ähnlich zusammengesetzt ist, wie das der Brusthöhle. Auf dem Peritoneum, besonders aber auf der Oberfläche der grossen Organe Leber, Milz u. s. w. findet man manchmal sehr reichliche Mengen Fibrinablagerungen, in anderen Fällen sind sie spärlich. Der Magendarmcanal

erscheint normal. Die Milz ist enorm vergrössert und in der Regel um so mehr, je länger das Thier lebte. Sie kann hart und consistent sein, in anderen Fällen ist sie aber weich und brüchig. Manchmal findet man die Trabekeln ausserordentlich vergrössert, so dass die Milz wie mit Sagokörnern besät erscheint.

Die Leber zeigt ebenfalls einen besonderen Volumumfang, der manchmal grösste Dimensionen annehmen kann.

Die Nieren sind auf dem Durchschnitt meist sehr blass, sowohl die Rinden wie die centralen Partieen; auch sie können vergrössert sein. Die Nebennieren sind häufig normal oder leicht vergrössert. Die Lymphdrüsen sind oft leicht vergrössert. In den grösseren Gelenkhöhlen finden wir häufiger Ergüsse, die recht bedeutenden Umfang annehmen können. Sie sind meist klar, bernsteingelb und gerinnen bald an der Luft.

Wenn wir alle diese geschilderten Veränderungen zusammenfassen, so erinnert uns vieles unwillkürlich an ähnliche Beobachtungen, die wir bei Sectionen septischer Leichen machen können.

Wenn wir dazu übergehen, verschiedene epidemiologische Beobachtungen zu besprechen, so haben meine Forschungen über die Herkunft der Krankheit ergeben, dass ihr ursprünglicher Sitz in Bolivien ist, von wo sie sich erst allmählich ausbreitete. Ich folge hierin den Aufzeichnungen Lacerda's (s. oben), welcher Seite 184 sagt: „A molestia veio da Republica da Bolivia“ (Die Seuche kam von der Republik Bolivien).

Die Krankheit tritt aber durchaus nicht gleichmässig in diesen Ländern auf, sondern nur dort, wo es Sümpfe giebt. Ein Zusammenhang mit Sümpfen besteht auch insofern, dass, wenn diese austrocknen, die Krankheit zurückgeht. Dieses bestätigt Lacerda, wenn er in seinem eben citirten Satz fortfährt: „e a razão da sua permanencia aqui supponho que é — ser a maior parte do territorio da provincia circumdado de grandes pantanos“ (sie ist permanent im grössten Theil des Territoriums, wo grosse Sümpfe sind).

Ich erwähne hier noch eine andere Angabe, ein Gutachten, welches die Regierung des argentinischen Territoriums in Formosa mir hat zukommen lassen und welches in der Uebersetzung etwa so lautet: „In höflicher Beantwortung ihrer Note muss ich bekennen, dass das Mal de Caderas in bestimmten Epochen erscheint, indem es immer häufiger auftritt, wenn grosse Regengüsse eintreten und wenn die Campe stehende Wässer enthalten. Im Jahre 1897 erschien so das Mal de Caderas im Monat April und verschwand im September. 1898 zeigte es sich im Herbst und dauerte bis zum Frühjahr. 1899 begann es im Frühjahr und hörte auf am Ende des Sommers, im Jahre 1900 beobachtete man den ersten Fall im Monat December.“

Ein ausgezeichneter Beobachter ist Dr. Kemmerich. Er bestätigte mir voll und ganz alle Beobachtungen anderer und hatte auch erkannt, dass ein inniger Zusammenhang mit den Sümpfen besteht. Auf seiner Estancia am oberen Paraguayfluss hat er dadurch die Seuche mit ausgezeichnetem Erfolge bekämpft, dass er die Sümpfe von allem Morast, Sumpfpflanzen u. s. w. befreite und in offene freie Teiche umwandelte. Er behauptet mit absoluter Bestimmtheit, die Krankheit dadurch bekämpfen zu können, dass er für dauernden freien Wellenschlag sorgte. Bewegtes Wasser hält er für völlig unschädlich.

Einen weiteren Beweis für die Beziehungen des Mal de Caderas zum Sumpfwasser erblickt Kemmerich auch in Folgendem. Eine Industriegesellschaft brauchte für ihre Betriebe viele Pferde, jahraus jahrein wurden Heerden von mehreren Hundert Pferden von Argentinien hergebracht, sie erlagen regelmässig sämmtlich und im nächsten Jahre wiederholte sich der Vorgang. Die Thiere wurden, wie das ja hier allgemein üblich, im Camp gehalten. Ein neuer Director lässt auf Kemmerich's Vorschlag Ställe bauen, bringt nur 40 bis 50 Thiere herauf von Argentinien und bei der Stallfütterung und Stallhaltung hört die Seuche plötzlich auf.

In Heerden, in denen die Seuche ausgebrochen ist, kann man die Krankheit sofort zum Stillstand bringen, wenn man die Thiere auf hochgelegenen trockenen Camp umquartirt. Es sterben dann wohl noch einige wenige Thiere, die bereits inficirt waren, dann hört aber die Krankheit auf.

Diese Angaben sind ganz ausserordentlich werthvoll und lassen ganz wichtige Rückschlüsse zu. Wir befinden uns dabei in einer ähnlichen Lage, wie bei der Malaria, wo auch der Sumpf beim Sumpffieber eine grosse Rolle spielte und in gewissem Sinne noch spielt. Ueber die Bedeutung dieser epidemiologischen Thatsachen will ich später noch ausführlicher berichten.

Wenn somit die örtlichen und Bodeneinflüsse (allerdings nicht im Sinne Pettenkofer's) von hervorragendem Einfluss sind, so ist die Zeit an sich gleichgültig, es bleibt sich gleich, ob es Sommer oder Winter ist, nur der Regen ist der bestimmende Factor.

In Bezug auf diese klimatischen und tellurischen Verhältnisse machen sich ähnliche Einflüsse geltend, wie man sie bei der südafrikanischen Pferdesterbe beobachtet hat. So schreibt Thierarzt Theiler in Pretoria[1]: „Die regenfreie Zeit (Winter) dauert von Mai bis October, worauf mässig Regen fällt, bis die eigentlichen Regenmonate Januar, Februar, März (Sommer) folgen. In letzteren drei Monaten findet man in Transvaal die Pferdesterbe am häufigsten und regelmässigsten. — Diese Bedingungen

[1] *Deutsche thierärztl. Wochenschrift.* 1901. Nr. 20.

machen uns auch verständlich, warum in gewissen Jahren die Sterbe mit mehr seuchenartigem Charakter vorkommt als in anderen. Diese Jahre zeichnen sich durch ausserordentliche Niederschläge aus und es kann als Regel gelten, je früher und je heftiger eine Regensaison einsetzt, um so früher und um so heftiger wird auch die Pferdesterbe auftreten."

Welch' auffallende Uebereinstimmung! muss man da unwillkürlich ausrufen. Setzen wir statt Pferdesterbe Mal de Caderas, so brauchen wir nichts weiter an Theiler's Worten zu ändern.

Ein Einfluss der „Nachtluft" und des Weidens in „thaunassem Grase", wie man ihn auf die Pferdesterbe bezieht, ist jedoch für das Mal de Caderas nicht festgestellt worden, wahrscheinlich weil dem Laien der Anfang der Krankheit entgeht oder vielleicht weil er thatsächlich nicht existirt. Auch Theiler erwähnt die Beobachtung, dass die im Stall gehaltenen Thiere selten oder nie erkranken.

Fragen wir uns nun, in welcher Intensität die Krankheit auftritt, d. h. also nach dem Procentsatz der Morbidität wie auch der Mortalität, so ergeben sich da die interessantesten Aufschlüsse. Zunächst steht fest, dass jedes von uns künstlich inficirte Thier der Krankheit erlegen ist. Da diese Zahl sich schon auf mehrere Hundert Thiere bezieht, so darf man füglich wohl behaupten, dass die Infectionsmöglichkeit maximal ist. Kein Thier bleibt einer Infection gegenüber seuchenfest. Damit ist die überaus grosse Gefährlichkeit der Seuche unbedingt gegeben. Wie verhalten sich dieser gesteigerten Disposition zur Erkrankung gegenüber die wirklichen Krankheitszahlen. Sehr wertvolle Beiträge liefern uns da die Statistiken der Cavallerieregimenter, die in Formosa im Chaco gegen die Indianer kämpfen. Im Jahre 1898 hatte nach Leoler (s. oben) das Regiment, welches am Bermejofluss stationirt war, im Juni 600 Pferde erhalten, im November existirten nur noch 100 Thiere. In den sechs letzten Monaten starben laut Bericht des argentinischen Kriegsministeriums von den im Chacogebiet operirenden Cavallerieregimentern:

		Pferde	Maulthiere
Regiment	1	344	172
„	6	91	28
„	8	340	119
„	11	210	60
„	12	54	110
	Total	1039	489

Dass bei solchen Verlustlisten jede Pferdezucht unmöglich ist und Kriege geradezu unausführbar werden können, wird Jedem ohne Weiteres einleuchten. Nicht immer sind die Erkrankungsziffern so grosse. Manch-

mal, besonders wenn Dürre eintritt, kommen die Pferdebesitzer mit geringeren Verlusten davon. Man rechnet 25 bis 100 Proc. Morbidität. Diese grossen Schwankungen sind aber nur dadurch bedingt, dass ein Mal viele Thiere inficirt werden, ein anderes Mal lediglich durch einen glücklichen Zufall weniger Thiere inficirt werden. Worin das beruht, werden wir noch sehen.

Die Sterblichkeit erreicht in der Regel 100 Proc. der Erkrankungsziffern. Bei unseren vielen Impfungen ist uns kein einziges Thier mit dem Leben davon gekommen, ein einmal inficirtes Thier war rettungslos verloren.

Es giebt Estancieros, welche gesehen haben wollen, dass einzelne Thiere gesund wurden. Ich muss aber in diese Angaben meine berechtigten Zweifel setzen und glauben, dass es sich dabei um andere Krankheiten handele, wie z. B. Abmagerung in Folge Futtermangels, Hitzeeffecte u. s. w. In diesen Angaben werde ich dadurch bestärkt, dass im Camp die verschiedensten Heilmittel als erfolgreich angepriesen werden, aber keines derselben hat mir je irgend einen Erfolg gezeigt. Man thut also gut, so lange an der absoluten Mortalität festzuhalten, bis das Gegentheil ganz einwandsfrei nachgewiesen ist.

Aetiologie des Mal de Caderas.

Die bisher mitgetheilten klinischen wie epidemiologischen Krankheiten lassen vermuthen, dass wir es mit einer Infectionskrankheit zu thun haben. Indessen mus ich hier bemerken, dass diese Auffassung doch nicht allgemeine Anerkennung findet, es giebt genug Leute, die der Annahme huldigen, dass es sich um Vergiftungen handelt, hervorgerufen durch den Genuss von Giftpflanzen. Diese Möglichkeit ist a priori jedenfalls zuzugeben, kann aber leicht widerlegt werden, wenn ich erwähne, dass wir im Laboriatorium mit winzigsten Mengen von Blut von einem kranken Thier immer wieder erfolgreiche Impfungen machen konnten und dass die Passage mehrere Hundert Thiere umfasst, so dass das ursprünglich eingeführte Krankheitsmaterial eine derartig beispiellose Verdünnung erfahren hat, die man kaum noch zahlenmässig darstellen kann, dass diese Annahme einer Wirkung eines nicht vermehrungsfähigen Giftes damit für immer von der Hand zu weisen ist. Es bleibt also effectiv nichts weiter übrig als die Annahme eines lebenden Agens, welches immer wieder die Krankheit hervorbringt. Ist das Mal de Caderas somit eine impfbare Krankheit, so fragt es sich, ob es auch eine contagiöse ist. Diese Frage muss verneint werden. In unserem Laboratorium stehen die kranken Thiere permanent mit anderen Pferden ca. 10 bis 30 Stück zusammen, fressen aus derselben Krippe, von derselben Raufe und trinken alle gemeinsam

aus derselben Wassertonne. Urin und Koth mischen sich täglich. Die kranken Thiere belecken sich mit den gesunden, das Wartepersonal ist dasselbe, kurz, es geschieht nichts zur Isolirung und dennoch findet keine Uebertragung statt. Das allein beweist schon, dass die Krankheit nicht ansteckend sein kann. Auch bei der Spontankrankheit beobachtet man, dass, wenn man kranke Thiere umquartirt in einen gesunden Camp, nie eine Neuinfection auftritt, wenn auch noch so viel Pferde da sind.

Diese Beobachtungen können wir uns in dem Sinne auslegen, dass die Krankheit nicht contagiös ist. Wir müssen uns daher nach einem anderen Infectionsmodus umsehen, bevor wir das aber thun, scheint es angebracht, sich nach dem Sitz des Virus umzusehen. Die ersten Forscher haben ihr Augenmerk auf die Medulla oblongata gerichtet, weil das klinisch so scharf hervortretende Moment der Lähmungserscheinungen der Hinterbeine der Thiere darauf hindeutete. Lacerda (s. oben) züchtete einen Bacillus aus dem Rückenmark, den er ausführlich beschreibt. Lecler (s. oben) hat ebenfalls einen coliartigen Bacillus im Rückenmark gefunden. Lacerda vermochte indess mit seinem Bacillus die Krankheit nicht zu reproduciren, erzeugte nur Fieber und glaubt, seine Cultur sei abgeschwächt und empfiehlt sie als Vaccin. Lecler tödtete 3 Pferde in 6, 7 u. 22 Tagen, wie er sagt, unter Reproduction des Krankheitsbildes des spontanen Mal de Caderas.

Er sucht den Erreger auch dann im Blute und findet dort einen Bacillus.

In der That drängt auch alles daraufhin, den Erreger im Rückenmark und Blut anzunehmen, und es bleibt unaufgeklärt, warum die erwähnten Autoren nicht diese Substanzen direct zu Uebertragungen benutzten, anstatt nur auf „Bacillen“ in denselben zu fahnden. Malbran und Zabala haben dann erfolgreiche Impfungen mit Blut und Medulla oblongata gemacht. Diese Versuche habe ich dann fortgesetzt und konnten wir einmal feststellen, dass schon ein Stich mit einer in infectionstüchtiges Blut eingetauchten Nadel in die Haut eines gesunden Pferdes genügte, um die Krankheit hervorzurufen, so dass das zur Infection nothwendige Krankheitsproduct nur minimal zu sein braucht. Nachdem somit in dem inficirten Blut eine Art Reincultur gegeben war, war es möglich, eine ganze Reihe weiterer Experimente zur Klärung der Frage nach der Ursache der Infection anzustellen. Zunächst ist Blut literweise in Kleie gemischt gesunden Pferden wiederholt gegeben worden. Die Thiere sind nie erkrankt. Dieses steht in einem sehr beachtenswerthen Gegensatz zu der leichten subcutanen Infectionsmöglichkeit.

Lässt man das Blut in der Kälte gerinnen, so kann man nicht nur das Serum von dem Blut brechen, sondern auch rothe und weisse Blut-

körperchen trennen. Nur eine Auflösung der rothen Blutkörperchen ergab immer positive Resultate, während die Serum- oder Leukocytenüberimpfungen in der Regel negativ waren. Filtrirt man Blut oder die Exsudate der Pleura der Herzbeutel oder der Bauchhöhle, die ebenfalls an sich infectionstüchtig sind, durch irgend ein Bakterienfilter, so ist das Filtrat steril und vermag die Krankheit nicht mehr zu erzeugen. Diese letztere Thatsache ist äusserst wichtig und unterscheidet sich der Erreger damit sicher von der Gruppe der Krankheitserreger, die so klein sind, dass sie Filter passiren wie der der Maul- und Klauenseuche (Löffler) und der der Pferdesterbe (Theiler).

Wir haben es also beim Mal de Caderas mit einem Blutparasiten zu thun, dessen Eigenschaften, d. h. Lebensthätigkeit, Lebensbedingungen u. s. w. nun studirt werden können.

Die während der Krankheit auftretende Hämoglobinurie, sowie ferner das nahezu constante Vorkommen von Erytrocyten im Harn lassen darauf schliessen, dass der Parasit in Beziehung zu den zelligen Elementen des Blutes stehen muss. Zunächst müssen wir feststellen, dass das Blutharnen Hämoglobinharnen ist, das ja nur durch Zerstörung der rothen Blutkörperchen und Auflösung des Blutfarbstoffes bedingt sein kann. Darüber geben Blutzählungen im Thoma-Zeiss leicht Aufschluss. Da machen wir denn die überraschende Entdeckung, dass die Zahl der rothen Blutkörperchen ganz enorm herabgesetzt ist. Während z. B. bei einem Pferde vor der Impfung 10 Millionen Erytrocyten im Cbmm. gefunden werden, nimmt die Anzahl derselben constant von Tag zu Tag ab, so dass in späteren Stadien die Zahlen 4 bis 3 Millionen nichts Auffallendes sind, ja wir haben die Zahl derselben bis auf 800000 herabgehen sehen, so dass es räthselhaft ist, wie dabei überhaupt noch Leben möglich ist. Dies ist aber kaum die wahre niedere Grösse, weil das Blut nicht unwesentlich eingedickt ist. Dieser Umstand kann sogar eine scheinbare Vermehrung vortäuschen. Die Leukocyten scheinen meist wesentlich beeinflusst zu werden. Lassen wir Blut in hohen Cylindern sich langsam absetzen, so ist der Kuchen der weissen Blutkörperchen oft gleich gross, ja noch grösser als der der rothen Blutzellen.

Entsprechend dem enorm grossen Untergang der rothen Blutscheiben nimmt auch der Hämoglobingehalt ab. Wir haben ihn von 13·1 Procent, welches nach Landois den Normalwerth darstellt, auf 3 bis 4 Procent herabsinken sehen und doch athmen und leben die Thiere noch. Es ist demnach die Krankheit eine exquisite Bluterkrankung, wodurch es verständlich wird, dass die Blut bildenden Organe, vor allem die Milz, so enorme Dimensionen annehmen, um den Ausfall zu decken, was ihnen aber nie gelingt.

Diese Befunde zwingen uns, die Krankheit als Hämoglobinämie zu bezeichnen. Nun ist die Hämoglobinämie bei Pferden aber keine unbekannte Krankheit. Ueber das Wesen dieser seit dem ersten Drittel des 19. Jahrhunderts in Deutschland beschriebenen Krankheit herrscht nach Friedberger und Fröhner[1] noch keine völlige Aufklärung. Es werden aber im Allgemeinen die nachfolgenden pathologischen Processe für das Wesentliche der Krankheit gehalten: Nierenentzündnng; Rückenmarksentzündung und -congestion; Blutversetzung bezw. Einwirkung eines infectiösen oder toxischen Stoffes mit Auflösung der rothen Blutkörperchen, rheumatische Affection der Kruppen- und Lendenmuskeln u. s. w.

Wie man sieht, ist die Mehrzahl der Symptome ausserordentlich ähnlich, wenn nicht identisch mit den oben beschriebenen Erscheinungen bei Mal de Caderas. Dennoch aber müssen wir sie für verschieden halten, denn die Hämoglobinämie ist acut und endet binnen Kurzem meist mit Genesung; Mal de Caderas ist chronisch und endet immer mit dem Tode. Immerhin sind die gemeinsamen Berührungspunkte so auffällig, dass ich glaubte, dies hier betonen zu müssen, um die Forschung auf diesen Gegenstand zu lenken. Vielleicht bieten neue Versuche, ähnlich den unsrigen angestellt, wie Blutübertragungen u. s. w., neue Anhaltspunkte und Aufschlüsse über die Aetiologie dieser wenig aufgeklärten Krankheit.

Weitaus glücklicher war die Forschung in der Erkenntniss einer bei Hunden vorkommenden Hämoglobinämie. Nach Friedberger-Fröhner[2] kommt die Krankheit fast ausschliesslich bei vom Ausland (China, Japan, Amerika) importirten Hunden vor. Sie unterscheiden im Monate und Jahre dauerndes latentes Stadium und ein „offenbares“ (acut oder peracutes) Stadium. Die Symptome sind chronische Abmagerung, Anämie, Schwäche, Lahmheit der Hinterbeine, Blutungen, Nephritis u. s. w. Also ganz ähnlich wie beim Mal de Caderas. Diese Krankheit ist nun aber durch Blutimpfung von Pferden auf Hunde übertragbar und macht ganz die gleichen Symptome, so dass ihre Erwähnung hier gerechtfertigt ist. Hier kennt man nun auch die Ursache des Leidens in Gestalt von Würmern, die im Blut auftreten. Seltener sind es Hämatozoon subulatum von Leisering. Strongylus subulatus von Cobbald oder Str. vasorum von Baillet. Die wichtigste Art ist aber Filaria immitis. Die Embryonen derselben bewohnen zu Hunderttausenden das Blut des Hundes.

Höchst interessant und hier durchaus nothwendig zu erwähnen sind die Entwickelung und die Uebertragung dieser Gebilde. Nach Manson

[1] Friedberger u. Fröhner, *Lehrbuch der speciellen Pathologie u. Therapie der Hausthiere.* 1900. Bd. I. S. 425ff.

[2] A. a. O.

nimmt der Mosquito in den Tropen der neuen Welt filarienhaltiges Menschenblut mit seinem Stich auf. Von der Leibeshöhle aus dringen sie in den Thorax ein, stellen hier ihre Bewegungen ein und wachsen, indem sie dabei sechs Entwickelungsstadien durchmachen. Nachdem der weibliche Mosquito seine Eier abgelegt und im Wasser seinen Tod gefunden hat, brechen die Filarien durch das Hautskelet aus der Mosquitoleiche hervor, tummeln sich im Wasser und werden so indirect oder auch direct durch den Mosquito übertragen. Ich glaube, in diesen Studien sind uns die besten Fingerzeige gegeben, in welcher Richtung wir vorgehen sollen, wenngleich weder beim Mal de Caderas der Pferde, noch bei der entsprechenden Hundeinfection Filarien beobachtet werden, um dies Factum hier gleich vorweg zu nehmen. Ehe wir uns jedoch auf die Suche begeben nach dem Blutparasiten des Mal de Caderas, müssen wir uns mit den von anderen Seiten als Ursache der Erkrankung ausgesprochenen Bakterien abfinden. Nun, ich glaube, über die Befunde Lacerdas kann man einfach zur Tagesordnung übergehen. Die Arbeit ist in einer Zeit entstanden, als die Bakteriologie noch in ihren Kinderschuhen steckte und hält einer modernen Kritik nicht Stand. Dem Autor daraus einen Vorwurf zu machen, wäre extrem, die Ursache zu seinem Fehlgriff lag in dem Material, das in durchaus uneinwandsfreiem Zustande war. Lecler, dessen Bacillenbefunde lange Zeit sehr ernst beurtheilt sind, hat laut Zeitungsmittheilung seine Behauptungen zurückgezogen und hält nicht mehr an der ursächlichen Bedeutung seines coliartigen Bacteriums fest. Da es indess wenig wissenschaftlich ist, mit Worten etwas weg zu disputiren, so will ich doch noch das Experiment zu Worte kommen lassen.

Der Erreger des Mal de Caderas tödtet die Pferde ausnahmslos in 2 bis 5 Monaten. Lacerda's Bacillus wirkt kaum krankmachend, Lecler's Bacillus tödtet in wenigen Tagen, d. h. in so kurzem Zeitraum, in dem kein Pferd an Mal de Caderas eingeht. Endlich aber bleibt der folgende Versuch entscheidend. Entnehme ich unter allen Cautelen Blut eines Mal de Caderas-Pferdes, so bleibt dasselbe Tage und Wochen lang unverändert. Alle damit beschickten Nährböden bleiben steril (Bouillon, Agar, Gelatine, Milch, Kartoffeln, Sera, Blut u. s. w.). Die kleinste Menge des sterilen Blutes genügt, um ein Pferd zu tödten unter sämmtlichen für Mal de Caderas typischen Erscheinungen. Damit sind sämmtliche Bakterienbefunde wohl von selbst wiederlegt. Wir müssen uns also nach anderen Dingen umschauen und da bleibt nichts übrig als die directe Blutuntersuchung. Untersucht man das Blut von Mal de Caderas kranken Pferden im geeigneten Moment im hängenden Tropfen, so findet man neben den Formelementen des Blutes, den rothen und weissen Blutkörperchen noch ein fremdes Zellgebilde, ein Trypanosoma.

Das Trypanosoma equina.

Das Trypanosoma equina, wie ich das Gebilde zum Unterschied von anderen Trypanosomen nennen möchte, kommt immer nur im freien Zustande im Blute vor, niemals eingeschlossen von Blutzellen. Es ähnelt dem von andereu Autoren beschriebenen Trypanosomen in manchen Beziehungen, in anderen weicht es ab.

Der Körper des Trypanosomas ist lang gestreckt, erinnert an die Form eines Aals. Er ist etwa zwei bis drei Mal so lang, als der Durchmesser eines rothen Blutkörperchens und an seiner breitesten Stelle etwa $^1/_3$ bis $^1/_2$ so breit wie letzteres. Nach den Enden zu spitzt sich das Protoplasma ganz allmählich zu, an dem einen Ende endet dasselbe in einer feinen Geissel, die etwa dieselbe Länge hat, wie der Protoplasmakörper, auch das andere Ende endet schnabelförmig, dieser spitze Ausläufer aber ist um etwa $^1/_3$ so lang wie die Geissel und contractil, d. h. das Trypanosoma vermag es einzuziehen und auszustrecken. Ausserdem zieht sich noch auf einer Seite des Protoplasmakörpers eine Membran hin, welche etwa die zwei Drittel des Körpers umfasst, die nach der Geissel zu liegen. Diese Membran hat die Gestalt einer Flosse wie bei Fischen. Man muss sie als eine zusammenhängende Masse bezeichnen, welche durch einen etwas dickeren Rand begrenzt wird. Dieser Rand nimmt die Farbstoffe besonders schön auf und lässt sich dadurch besonders kenntlich machen. Das Trypanosoma ist beweglich, diese Bewegungen haben die meiste Aehnlichkeit mit denen eines Aals, der sich im Schlamm bewegt, sie sind ausserordentlich lebhaft und um sie in ihren Einzelheiten zu studieren bleibt nichts Anderes übrig, als die Thierchen so zu sagen halb aufs Trockene zu setzen, wie es am Rande eines hängenden Tropfens, wenn er gut angelegt ist, sehr schön gelingt, oder dadurch, dass man durch Gelatinezusatz den Tropfen weniger flüssig macht, wie es Kanthack, Durham und Blaudford[1] angegeben haben. Alsdann bemerkt man, wie die Bewegung eine ziemlich complicirte ist. Der ganze Körper ist permanent in Bewegung, ohne dass man, so lange wenigstens das Individuum lebt, einen Stillstand oder eine Verminderung beobachtet. Diese Bewegung ist aber keine eigentliche Locomotionsbewegung, sondern nur eine nach rechts und links schnellende Bewegung, wie sie die Würmer, wenn man sie aus dem Boden ausgräbt, vollführeu. Dabei ist der ganze Körper betheiligt, wobei Geissel und Schnabelende immer nach entgegengesetzten

[1] Kanthack, Durham und Blaudford, On Nagana or Tsetse Fly Disease. *Hygienische Rundschau.* 1898.

Seiten ausschlagen, so dass etwa in der Mitte des Körpers der ruhende Pol zu denken ist. Die Geissel macht dabei ihrerseits noch besonders ausgiebige Schläge, indem ihr Ende manchmal bis zum Schnabelfortsatz reicht. Durch diese ausgiebigen Bewegungen werden indess nur unbedeutende Ortsveränderungen bewirkt, aber um sich den Aufwand von Kraft vorzustellen, der dabei verbraucht wird, muss man gesehen haben, wie durch einen Schlag 10 bis 15 zusammenhängende Blutkörperchen bei Seite geworfen werden, wenn sie gerade in der Nähe des Trypanosomas liegen. Um die Ortsveränderung zu bewirken, scheint hauptsächlich die Undulationsmembran thätig zu sein, sie wirkt hauptsächlich wie eine Flosse. Durch ihre Bewegungen erhalten wir Bilder, wie sie ein wogendes Kornfeld zeigt, fassen wir einen Punkt derselben ins Auge, so beobachtet man, wie sie bald hoch ansteigt, bald niedrig abfällt, und geht die Wellenbewegung von einem Ende des Membran zum andern, bald von vorn nach hinten, bald von hinten nach vorn. Manchmal erscheint die Membran schraubenförmig am Körper angesetzt, dieses ist aber nur scheinbar, indem der ganze Körper sich korkzieherartig um seine Längsaxe zu drehen vermag. Wir müssen uns demnach die Membranbewegung nicht als ein Ein- und Anziehen derselben vorstellen, sondern es sind die Formveränderungen mehr durch Seitwärtsbewegungen und Seitwärtsneigungen hervorgerufen. Diese Bewegungen, welche offenbar den Zweck haben, den Ort zu verändern, sind indess nicht immer von gleicher Stärke, sie allein vermöchten auch wohl kaum selbst die in der That relativ unbedeutende Ortsveränderung zu bewirken, wenn nicht die Geissel mit hülfe. Diese macht sich selbstthätig und offenbar unabhängig von der Undulationsbewegung einen Weg des Vordringens und dahin geht der Körper nach. Damit sind wir bei der Frage, wo vorn und wo hinten ist, angelangt. Man hat unwillkürlich die Vorstellung, dass die Geissel das treibende Steuerruder sei, aber das ist offenbar nicht der Fall. Es gilt als Regel, dass die Geissel voran marschiert und der Schnabel nachfolgt. Wenn man indess die Geduld nicht verliert und sorgsam nachforscht, so findet man, dass auch dann und wann das Schnabelende vorangeht, es bildet das aber immer die Ausnahme. Es fällt unwillkürlich auf, und man fragt sich, warum diese rasende blitzartigschnelle Undulationsbewegung, und warum die langsame Locomotionsbewegung? Man möchte gern annehmen, dass die Undulationsbewegung mit der Ernährung zusammenhängt, aber das will mir nicht scheinen, wo das fliessende Blut selbst in jedem Moment verändert ist, und dann ist im hängenden Tropfen, wo das Blut ruht und und nicht erneuert wird, auch selbst bei der Anwesenheit der fabelhaftesten Mengen der Trypanosoma immer genug Nahrungsstoff vorhanden, um für Stunden die kleinen Protozoen am Leben zu erhalten.

Die von uns beobachteten Bewegungsvorgänge schliessen sich demgemäss eng an die von Butschli[1], Danilewsky[2], Rabinowitsch-Kempner[3] beobachteten Thatsachen an.

Der Körper, die Geissel, der Schnabel und die Undulationsmembran stellen eine stark lichtbrechende Protoplasmamasse dar, die ausserdem sehr contractil ist. Wir wissen aber aus dem Studium anderer Trypanosomen, dass das Innere des Protoplasmakörpers keineswegs homogene Masse ist, schon an ungefärbtem Präparat sieht man einige feine dunkle Punkte, welche von einem hellen, äusserst stark lichtbrechenden Hofe umgeben sind. Diese Körperchen treten besonders nach Essigsäurezusatz hervor. Diese Kügelchen können zweifach bis vielfach sein, und wir müssen sie nach Analogie anderer Trypanosomen als Kernkörperchen auffassen. Wir werden sehen, wie diese Kernkörperchen in engster Beziehung zu der Vermehrung des Trypanosoma stehen. Um das aber anschaulicher zu gestalten, bedürfen wir der Zuhülfenahme der verschiedenen Farbstoffe, um die Gebilde besser hervortreten zu lassen.

Man kann die Trypanosomen mit nahezu allen der in den Laboratorien gebrauchten Farbstoffen färben. Sie nehmen die Farbe ziemlich gut und leicht an. Ausgezeichnete Bilder erhielt ich mit Eosinfärbung, die ein leuchtendes Roth geben, wobei auch besonders die Undulationsmembran gut sichtbar gemacht werden kann. Aber jede andere Anilinfarbe leistet schliesslich dasselbe, und würde es Zeitverschwendung sein, eine Beschreibung aller Färbungen anzugeben. Alle diese Farben färben aber den ganzen Körper nur homogen und lassen keine Differenzirungen hervortreten. Um aber die Kerngebilde zu studiren, bedarf es anderer Mittel. Wir wissen, dass es sich bei den seither bekannten Trypanosomen um Chromatin handelt, welches nach Rabinowitsch-Kempner bestimmte Reactionen giebt. Diese konnten auch wir mit dem gleichen Erfolg ausführen, wodurch ihre chemische Constitution bestimmter wird, es giebt aber noch einen anderen Weg, der eher zum Ziele führt, und das ist die Doppelfärbung nach Romanowsky. Ich muss gestehen, dass es mir eine unendliche Mühe gemacht hat, bis ich ein brauchbares Färbematerial gefunden habe, endlich habe ich indess Erfolg gehabt und dann die prachtvollsten Präparate erhalten, welche auch den ganzen Entwickelungscyclus klarlegten. Bei der Romanowsky'schen Färbung handelt es sich um eine Doppelfärbung, wobei die Kerne ein tief dunkles Carmoisinroth

---

[1] Bütschli, Brown's *Classen u. Ordnungen des Thierreiches.* Protozoa. 1889.

[2] Danilewsky, *La parasitologie comparée du sang.* Charkoff 1889.

[3] Rabinowitsch-Kempner, Beitrag zur Kenntniss der Blutparasiten speciell des Rattentrypanosomen. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXX.

zeigen, während das Protoplasma blau erscheint. Die Färbung ist nun trotz guter Farbe ziemlich umständlich, da man sich einmal vor Niederschlägen hüten, dann aber auch die Farbe intensiv sein soll. Letzterer Umstand ist aber recht schwierig, da bei zu langer Einwirkungsdauer der Flüssigkeit sich die Trypanosomen leicht vom Deckglas lösen. Es gehört also eine gewisse Uebung, Technik und Geduld dazu, brauchbare Bilder zu erhalten. Es gelingt, wenn anders die Farbe gut ist, leicht, die Kerne carmoisinroth zu färben, aber schwieriger ist's, dass das Protoplasma das Blau annimmt. Die Zellmembran färbt sich relativ leicht, aber das Innere bleibt immer blasser, als der Rand, was für die Beurtheilung und Beobachtungen der Kerne indess nur von Vortheil ist.

Wenn ich nun zu der Beschreibung der Kernfiguren übergehe, so ist mir das nur möglich, wenn ich gleichzeitig die Entwickelung der Trypanosomenformen bespreche, die eng mit der Kernbildung in Zusammenhang ist. Betrachten wir ein junges, eben ausgewachsenes Trypanosoma (Taf. V, Fig. 1), ein Gebilde, welches man immerhin selten sieht, da die Trypanosomen in fortwährender Vermehrung begriffen sind, so sehen wir zwei dunkelrothe Fleckchen im Zellinnern, den einen kleineren mehr nach dem Schnabelende hin gelagerten, den anderen grösseren mehr nach der Geissel zu gerichteten. Im ungefärbten Präparat kann man sehen, wie beide Körper nicht absolut fest fixirt sind, sondern sich einer gewissen Bewegungsfreiheit, wenn auch nur in beschränktem Maasse erfreuen. Dadurch ist die Lage nicht genau fixirt, aber immer sind sie endständig. So weit stimmen meine Beobachtungen mit Rabinowitsch-Kempner überein. Ich nenne daher mit diesen Autoren den Schnabelkörper Nucleolus, den Geisselkörper Chromatinhaufen. Um den Chromatinhaufen herum sieht man aber zuweilen, nicht immer einen hellen Hof (Taf. V, Fig. 1), der von einer Randzone begrenzt erscheint, der keinerlei Farbstoff angenommen hat. Diese Randzone macht den Eindruck einer Kapsel, sie scheint indess kein integrirender Bestandtheil des Chromatinhaufens zu sein, da man sie in der Regel vermisst, vielleicht dass sie überhaupt ein Kunstproduct ist. Diese Form ist aber nicht bloss dem Chromatinhaufen eigenthümlich, sondern man kann gelegentlich genau dasselbe beim Nucleolus beobachten, in diesen Fällen erschien der Nucleolus besonders gross.

Diese eben beschriebene Form des Trypanosoma müssen wir in Analogie der bei anderen Autoren beobachteten Trypanosomen als die Normalform betrachten, aber ich betone nochmals, dass man bei der ausserordentlich raschen Vermehrungsfähigkeit der Trypanosomen dieses Stadium nur selten zu sehen bekommt. Um nun die Entwickelung zu verfolgen, haben Danilewsky, Ogata u. A. die Trypanosomen in Capillaren, die mit Blut oder Serum gefüllt waren, wachsen lassen. Meine

diesbezüglichen Versuche sind absolut fehlgeschlagen. Auch im hängenden Tropfen beobachtet man nie Entwickelungsformen, ausnahmslos gehen die Trypanosomen zu Grunde. Bereits nach 10 bis 15 Minuten sind der grösste Theil derselben, je nach der herrschenden Temperatur, unbeweglich geworden oder führen höchstens noch wackelnde Bewegungen aus. Allmählich zieht sich das Protoplasma mehr und mehr zusammen in der Längsrichtung, dabei dehnt es sich in der Quere aus und quillt sichtbarlich auf (Taf. V, Fig. 2 *a*—*c*). Die spitzen Fortsätze werden eingezogen, es bilden sich Klumpen, die die wunderbarsten Formen annehmen, schliesslich wird der ganze Körper heller und heller, bis sich alles in Kügelchen auflöst, die allmählich verschwinden. Man kann sagen, dass dieser Vorgang in der Regel in 24 bis 48 Stunden abgelaufen ist. Nach 3 bis 4 Tagen ist das Blut dadurch infectionsuntüchtig geworden. Indess kann es vorkommen, dass in Einzelfällen einzelne Individuen noch länger restiren uud ist es in einem Fall gelungen, mit 14 Tage altem Blut ein Pferd noch mit Erfolg zu impfen. Es bleibt das aber eine merkwürdige Ausnahme. Um den Entwickelungsgang zu studiren, bleibt uns nichts Anderes übrig, als uns an das kranke Thier zu halten, wie es Rabinowitsch-Kempner (s. o.) und auch H. G. Plimmer und J. Rose Bradford[1] thun.

Färben wir trypanosomahaltiges Blut nach Romanowsky, so treffen wir im Präparat die mannigfachsten Formen an und es ist keineswegs eine einfache Sache, sich aus den verschiedenen Beobachtungen ein einheitliches Bild zu machen. Meine Beobachtungen mögen in Bezug auf diesen Punkt gewiss noch eines weiteren Ausbaues fähig sein. Eins ist klar, die Vermehrung, die durch Theilung erfolgt, ist eng an die Kerntheilung gebunden.

Die ganz jungen, aber schon vollständig gewordenen Individuen haben noch nicht die Form des ausgewachsenen Trypanosoma, das Individuum macht seine Reifung erst allmählich durch. Wir begegnen zuerst Formen, die die Gestalt einer Kaulquabbe haben. Ein länglich eiförmiger Körper, an dessen einem spitzen Ende die Geissel ausstrahlt. Diese Gebilde sind aber selbstständig beweglich und lassen, nach Romanowsky gefärbt, Nucleolus-Chromatinhaufen erkennen. Allmählich erfolgt dann die Streckung und die Schnabelbildung. Die fertige Form mit nur zwei Kernkörperchen ist aber selten (Taf. V, Fig. 3 *a*). Man kann schon Kugelformen beobachten, in denen der Kern sich theilt (Taf. V, Fig. 3 *b*). Diese Kerntheilung finden wir aber fast regelmässig in den ausgewachsenen

[1] H. G. Plimmer u. J. Rose Bradford, *Fly Disease on Nagana.* Vorgelesen in dem Tsetsefliegen-Comitee der Royal Society London, 15. Juni 1899.

Formen. In der Regel ist der Chromatinhaufen getheilt, und zwar löst der sich nicht etwa in zwei neue Kerne auf, sondern gleich in eine ganze Reihe, z. B. 3 bis 10 Stück. Diese Kerne liegen zerstreut und in unregelmässiger Form im Protoplasma am Geisselende (Taf. V, Fig. 4). Ja man kann dann und wann beobachten, dass ein oder gar ein paar Tochterkerne bis weit nach vorn in den Geisselkörper gelagert sein können, es bleibt das naturwissenschaftlich eine höchst merkwürdige Thatsache, dass sich so lebenswichtige Körpertheile wie Kernkörperchen in ein so gebrechliches und gefährdetes Gebilde, wie es doch die Geisselfäden sind, verlieren können. Während sich diese Kerntheilungsvorgänge am Geisselende abspielen, sehen wir den Nucleolus intact bleiben, in anderen Fällen jedoch sieht man wie auch der Nucleolus sich theilt, doch scheint die Zertheilung nicht so vielfältig zu sein. Nunmehr nimmt das Plasma die unregelmässigsten Formen an, quillt nicht unbeträchtlich auf, die Geissel und Schnabel verschwinden allmählich, die Kernkörperchen vertheilen sich in der unregelmässigsten Weise im Protoplasma und ordnen sich endlich in gewissen Gruppen an. Nun bemerkt man an der äusseren Membran gewisse Einschnürungen, welche, immer weiter zunehmend, die Bildung der Tochterindividuen ausmachen. Es kommt nun zur vollständigen Abschnürung der Protoplasmamassen. Diese erfolgt in seltenen Fällen in der Längstheilung (Taf. V, Fig. 5 *a*), und ist das Resultat dann zwei neue Individuen. Weitaus häufiger, und man kann sagen die Regel ist die Quertheilung (Taf. V, Fig. 5 *b*). Hier beobachtet man in der Regel 2, 3, auch 4 Einschnürungen des Protoplasma, welche sich allmählich zu Kugelformen abschnüren, aus einzelnen ragt schon die Geissel heraus (Taf. V, Fig. 5 *c*). Diese Kugeln trennen sich ab, werden selbstständig, strecken sich und bilden neue Individuen, worauf die Theilung mit Kernvermehrung und Protoplasmaabschnürung aufs Neue beginnen kann (Taf. V, Fig. 6).

Wenn wir diesen Theilungsmodus als den gewöhnlichsten bezeichnen müssen, so will ich nicht unterlassen zu bemerken, dass man gelegentlich, wenn auch selten, Formen beobachtet, in denen der ganze Protoplasmaleib kugelförmig aufgetrieben ist, man findet dann 12 bis 20 Kerne, welche sich an der Peripherie in verschiedenen Theilen gesondert gruppiren, worauf eine Abschnürung des Protoplasma erfolgt. Allmählich wird auch eine oder mehrere Geisseln sichtbar und entwickeln sich nun eine grössere Reihe neuer Individuen, entsprechend der Kernzahl. Diese Theilungsform ist aber offenbar ebenso selten wie die einfache Längstheilung. Man darf diese Art Vermehrung am zweckmässigsten als Segmentirung bezeichnen.

Wenn wir diese drei Theilungsmodi festhalten: 1) Längstheilung, 2) Quertheilung, 3) Segmentirung, so folgen wir darin den Angaben von Danilewsky, Bütschli und Rabinowitsch-Kempner.

Das eigentlich Wesentliche ist aber die Quertheilung. Im Allgemeinen muss man mit Rabinowitsch-Kempner daran festhalten, dass die verschiedenen Theilungsmodi nicht so streng getrennt sind, sondern dass es die mannigfachsten Übergangsformen giebt, so dass man nur gezwungen eine Schematisirung durchführen kann. Plimmer und Bradford, die sich sehr ausführlich mit dem Theilungsmodus der Trypanosomen der Surra beschäftigen, wollen noch andere Theilungsformen gesehen haben, die auf der Basis der Conjugation der beiden Individuen beruhen; zwei zusammenhängende Exemplare beschreibt auch Elmassian, der sich sonst nicht weiter mit dieser Frage beschäftigt, und glaubt sie als Conjugationsformen ansprechen zu dürfen (Taf. V, Fig. 7). Letztere Formen kann man ebensowohl als junge noch nicht getrennte Individuen auffassen, mit um so mehr Berechtigung, da Elmassian die Kerntheilungsfrage überhaupt nicht studirt hat. Die Angaben der ersteren Autoren sind sehr unklar gehalten und scheinen auch sehr zweifelhaft, da man etwas Derartiges sonst nicht bei Trypanosomen beobachtet hat. Die Frage wird ja bald bei weiteren vergleichend anatomischen Studien dieser Gebilde zu entscheiden sein, sobald man die verschiedenen Trypanosomaarten bei einander hat, und muss man, wenn derartige Conjugationen thatsächlich vorkommen, den Trypanosomen eine ganz andere Stellung einräumen.

Wenn wir somit den inneren Bau und den Entwickelungsgang der Trypanosomen kennen gelernt haben, müssen wir nunmehr zu unseren klinischen Beobachtungen zurückkehren und den Entwickelungscyclus im Körper des Pferdes verfolgen. Wir haben auf Grund verschiedener klinischer Beobachtungen zwei Krankheitsstadien angenommen und diese sind noch mehr differenzirt, wenn wir die Trypanosombefunde berücksichtigen.

Die Trypanosomen treten etwa am 5. bis 6. Tage nach der Infection mit dem Einsetzen der Fieberbewegung auf und wenn wir Anfangs in einem hängenden Tropfen nur ein oder wenige Keime beobachten, so wächst ihre Zahl konstant, derart, dass sie gleichen Schritt hält mit der Fieberbewegung. In den ersten 5 Tagen finden wir dagegen auch bei sorgsamster Untersuchung des Blutes nichts, offenbar, weil die Menge der Trypanosomen noch nicht gross genug ist, um in den relativ geringen Mengen, die zur Untersuchung kommen, mit Constanz angetroffen werden zu können. Sobald nun die Temperatur über 40° und mehr ansteigt, verschwinden die Trypanosomen auf eine bislang noch ziemlich räthselhafte Weise. Auf der Acme der Fiebercurve findet man selten noch Keime, aber wenn man solche sieht, zeigen sie keinerlei Degeneration. Sie sind wohl ausgebildet und im hängenden Tropfen gut beweglich, im Gegensatz zu den postmortalen und extravasculären Vorgängen. Trotzdem

wie sie gekommen sind, so verschwinden sie, ohne dass man einstweilen für die Erscheinung eine andere Erklärung heranziehen könnte, als die hohe Temperatur, bei der sie nicht mehr lebensfähig wären. Diese Theorie hat allerdings viel Bestechendes, aber gegen ihre Richtigkeit spricht noch der Umstand, dass man im Reagensglas die Trypanosoma bei 40 bis 41° halten kann, ohne dass ihre Vitalität irgendwie beeinflusst wäre, und dann finden wir, dass in dem zweiten Stadium der Krankheit die Thiere wiederholt über 40° haben können, ohne dass die Trypanosomen verschwänden, oder wesentlich vermindert wären. Wenn wir uns nun vergegenwärtigen, dass jeder Organismus über Abwehrvorrichtungen in Gestalt gewisser chemisch und physiologisch greifbarer Schutzstoffe verfügt, und dass diese gewiss auch beim Pferd gegen Trypanosoma da sein müssen, so kann man sich wohl vorstellen, dass diese Stoffe besser einwirken bei einer erhöhten Temperatur, als bei niederer, wissen wir doch, dass das jedes Desinficiens ebenfalls thut. Damit bleibt es denn auch verständlich, warum ein Thier in späteren Stadien der Krankheit nicht mehr im Stande ist, die Trypanosoma zu bewältigen, einfach weil der spärliche Vorrath natürlicher Schutzstoffe längst verbraucht ist und das kranke Thier nichts Neues dafür an die Stelle zu setzen vermag. Diese Vorstellung kann wenigstens befriedigen, so lange bis wir etwas Besseres an ihre Stelle zu setzen haben.

So massenhaft auch der Untergang der Trypanosomen sein mag, stets bleiben aber immer noch genug Lebewesen übrig, um die Art zu retten. Man kann auch in der fieberfreien scheinbar trypanosomenfreien Zeit, wenn man nur etwas grössere Blutmengen nimmt, immer die Krankheit mit Erfolg übertragen und haben wir Fehlimpfungen eigentlich nur 3 bis 4 Mal gehabt bei den Hunderten von Impfungen, die angestellt sind. Hat mit dem Schwinden des Fiebers die Einwirkung der protozooniciden Substanzen aufgehört, so hebt sogleich wieder die Vermehrung und Neubildung der Trypanosomen an. Nach 3 bis 5 Tagen erscheinen sie wieder im hängenden Tropfen und vermehren sich bis zur Acme des wieder einsetzenden Fiebers. Nun wiederholt sich die Zerstörung derselben und so geht das Spiel fort 3, 4, 6 und mehrfach, je nach der Resistenz des Thieres. Was nun die Anzahl der Trypanosomen betrifft, so findet man auf der Höhe ihrer Ansammlung etwa 10 bis 25 Proc. im Verhältniss zu den rothen Blutkörperchen. Gleich bei der ersten Attaque sind sie genau so zahlreich wie in allen späteren Stadien und niemals beobachtet man solche Ansammlungen im Blut wie bei anderen Thieren, worauf ich gleich zu sprechen komme.

Anders ist der Verlauf in der zweiten Hälfte der Krankheit.

Das kranke Pferd verliert allmählich an Widerstandskraft und so sehen wir, wie die Bestrebungen, die Trypanosomen los zu werden nur schwache Versuche bleiben, die höchstens zu einer unwesentlichen Verminderung der Krankheitskeime führen, ohne dass es indess wie in der ersten Periode der Krankheit nochmals zu einem mehrere Tage dauernden Verschwinden derselben käme. So tritt dann der Tod ein. Nach dem Tode findet man die Trypanosomen immer nur kurze Zeit intact. Es machen sich nach ein paar Stunden bereits Degenerationserscheinungen geltend. Die Trypanosomen ziehen ihre Ausläufer ein, der Körper quillt auf und nimmt unregelmässige Gestalten an, er wird durchsichtiger und löst sich schliesslich in eine Anzahl von Kügelchen auf, die rasch zerfallen. 24 Stunden nach Eintritt des Todes ist es meist unmöglich, dass man noch lebende Trypanosomen findet. Es ist das von ausserordentlicher praktischer Bedeutung. Wir stellen damit fest, dass durch Leichen der an Mal de Caderas gefallenen Thiere kaum noch die Krankheit übertragen werden kann, und wenn man nur die Weiterverbreitung für 24 Stunden hindert durch Zudecken der Cadaver, so kann man sie ruhig im Camp liegen lassen, ganz im Gegensatz zu allen Krankheiten, deren Erreger, wie z. B. Milzbrand, Dauerformen bilden, die noch nach Jahren infectiös wirken. Man kann also auch nach 24 bis 48 Stunden ruhig das Fell der gefallenen Thiere abziehen und verwerthen. Viel Werth haben allerdings die Felle derartig heruntergekommener Thiere nicht.

Im Gegensatz zu diesen typisch verlaufenden Fällen kommen aber atypische vor, die man kennen muss, wenn man nicht diagnostische Irrthümer begehen will. Es kann nämlich vorkommen, und ist das durchaus nicht selten, dass die kranken Thiere kurz vor dem Tode noch einmal alle Kräfte aufraffen und kommt es, trotzdem Wochen lang vorher täglich die Trypanosomen im Blut nachgewiesen wurden, vor, dass dieselben ein paar Tage vor dem Tode verschwinden. Das hindert den Tod des herunter gekommenen Thieres keineswegs. Bei der Section gelingt es dann naturgemäss nicht, die Trypanosomen aufzufinden, nichts destoweniger sind spärliche Reste vorhanden, und gelingt mit mehr oder weniger grossen Blutmengen die Infection sicher, so dass man durch den Thierversuch solche Fälle diagnostisch sicher stellen kann.

Es bleibt nun noch übrig, festzustellen, in welcher Weise die Vertheilung der Trypanosomen im Körper erfolgt. Tödtet man das Thier in einem Moment, in welchem zahlreiche Trypanosomen im Blut sind, so ist es leicht, dieselben in allen Organen nachzuweisen, natürlich am meisten in den an Blut reicheren Organen. Ich habe dabei nicht konstatiren können, dass in irgend einem Organ eine besondere Localisirung stattfände, auch konnte ich ebenso wenig besondere Entwickelungsformen

oder auch besonders zahlreiche Entwickelungsformen beobachten, die irgend einen bestimmten Gegensatz zu dem im Blut betroffenen Verhältnisse im Sinne von Prädilectionssitzen darböten. Naturgemäss fanden sie sich zahlreich in Milz, Lymphdrüsen, Leber u. s. w. Auffallender Weise waren sie im Knochenmark weniger zahlreich, als man hätte erwarten dürfen, ebenso fanden wir sie selten im Medullarrohr. Wie in den Organen kann man die Trypanosomen aber auch in den Körperhöhlenflüssigkeiten wie den Exsudaten von Pleura, Pericard, Peritoneum und der Gelenke finden. Auch im Urin lassen sie sich nachweisen. Es ist das weiter nicht auffallend, wenn man berücksichtigt, dass auch die Blutzellen hier überall angetroffen werden.

Untersucht man nun Leichen, in denen im Blut keine oder wenige Keime gefunden wurden, so macht man dieselben negativen Befunde in den Organen. Ich glaube also annehmen zu dürfen, dass die Entwickelung und das ganze Leben der Trypanosomen sich wesentlich im Blut abspielen.

Wenn ich hiermit die biologischen Daten über die Trypanosomen schliesse, so bleibt uns nun noch die Frage zu beantworten, wie die Trypanosomen sich bei der Ueberimpfung auf andere Thiere verhalten. Wir werden da nach einander eine ganze Reihe von Thieren besprechen müssen. Zunächst die nahen Verwandten des Pferdes, den Esel und das Kreuzungsprodukt Beider, das Maulthier. Auch diese beiden Thierarten erliegen ausnahmslos der Infection genau wie die Pferde, aber es besteht doch ein wesentlicher Unterschied bezüglich der Dauer der Krankheit. Beide Thierarten leben ganz bedeutend länger, die Krankheit kann viele Monate, ja sogar ein Jahr und länger dauern, wenn man den Thieren eine einigermaassen gute Behandlung zu Theil werden lässt. Monate vergehen überhaupt, ehe das Körpergewicht der Thiere wesentlich abnimmt, und man merkt beim besten Willen nicht, dass die Thiere krank sind. Diese Thatsache hat dazu geführt, dass man in den Mal de Caderasgegenden vielfach Maulthiere und Esel eingeführt hat, da die Pferde zu schnell eingingen und diese letzteren Thierarten immerhin für Monate arbeitsfähig sind. Eine Erklärung für dieses wichtige Factum finden wir sofort, wenn wir Blutuntersuchungen vornehmen. Man findet nämlich Tage und Wochen lang das Blut frei von Trypanosomen, und in der Regel erlebt man auch bei eifrigster täglicher Blutuntersuchung in einem Zeitraum von 2 Monaten nur eine einzige Attaque, wo die Trypanosomen etwas reichlicher im Blute vorhanden sind. Aber die Anzahl derselben ist auch dann noch geringer als beim Pferd in einer Attaque, und die Zeitdauer des Nachweises derselben ist manchmal nur auf einige Stunden, im günstigsten Fall auf ein bis zwei Tage beschränkt. Das kann nur dadurch

erklärt werden, dass Esel und Maulthier über ganz bedeutende Widerstandskräfte verfügen, welche dem Trypanosoma das Aufkommen sehr erschweren. Es würde mich auch nicht Wunder nehmen, wenn man Thiere anträfe, die die Krankheit überstanden hätten. Wenn das irgendwie möglich ist, muss das hier geschehen.

Offenbar kommt diese Widerstandsfähigkeit in erster Linie dem Esel zu, und es ist sehr interessant, dass der männliche Esel bei der Kreuzung mit Stuten, wie es hier allgemein geschieht, die relative Immunität überträgt, ein Beweis, dass die natürliche Immunität keineswegs immer durch das mütterliche Blut hervorgerufen wird. Zum Beweis dafür, dass das Blut auch der Esel- und Maulthiere stets die Trypanosomen enthält, vermag ich anzuführen, dass es in jedem Stadium der Krankheit möglich ist, mit genügend grossen Mengen Blutes die Krankheit zu reproduciren.

Aus diesen Befunden erhellt jedoch zur Genüge, warum diese Thierarten so viel länger leben als die Pferde.

Gegen Ende der Krankheit treten allerdings auch ähnliche klinische Symptome auf, wie bei den Pferden, starke Abmagerung, taumelnder Gang u. s. w., und erliegen auch diese Thiere schliesslich am Marasmus.

Da das Experimentiren mit Pferden, Maulthieren und Eseln etwas kostspielig und umständlich ist, so lag es nahe, Infectionen an den gebräuchlichen Laboratoriumsthieren auszuführen. Meine eigenen Beobachtungen haben nun das Folgende ergeben.

Am alleremptänglichsten für die Trypanosomen sind die Mäuse, sowohl weisse wie graue Hausmäuse. Inficirt man die weissen Mäuse mit nur einem Tropfen Trypanosomablut subcutan oder intraperitoneal, so kann man schon nach 20 Stunden in dem dem Schwanz entnommenen Blutstropfen die Trypanosomen nachweisen. Graue Hausmäuse sind etwas widerstandsfähiger, bei ihnen finden sich die Trypanosomen erst am 3. Tage nach der Infection. Es kommt nun zur allmählichen Vermehrung der Trypanosomen, die von Tag zu Tag zahlreicher auftreten. Bei weissen Mäusen sind am 4. und 5. Tage ganz ungeheuere Mengen im Blute, derartig, dass ihre Anzahl grösser ist, als die der rothen Blutkörperchen, Unmengen, die man bei den oben erwähnten Thieren niemals beobachtet. Die Thiere sind dabei völlig munter; erst kurz vor dem Tode treten comatöse Zustände ein, die Stunden lang dauern können, der Tod kann aber auch ohne Vorboten eintreten. Entsprechend dem späteren Auftreten der Trypanosomen im Blute der grauen Hausmäuse dauert auch die Erkrankung derselben länger, sie sterben etwa am 12. bis 14. Tage nach der Impfung. Einige Tage vor dem Tode finden wir ebenfalls diese fabelhaften Mengen von Trypanosomen im Blute, auch sonst ist ihr Verhalten ganz analog denen bei weissen Mäusen.

Wir müssen also constatiren, dass Mäuse ganz ausserordentlich empfänglich sind, die Trypanosomen treten enorm früh im Blute auf und ausnahmslos erliegt jede Maus der ersten Attaque. Ihre Empfänglichkeit ist also ganz bedeutend höher als die der Pferde, ja die Maus ist überhaupt das empfänglichste Thier, welches wir kennen gelernt haben. Es eignet sich die Maus daher ganz besonders zu den verschiedensten Experimentalstudien. Bei der Autopsie finden wir auch seröse Ergüsse in die Körperhöhlen, Milzschwellung u. s. w., viele Aehnlichkeiten mit den bei Pferden beobachteten pathologischen Daten.

Ratten.

Auch Ratten sind für die Infection empfänglich. Weisse Ratten haben nach 2 bis 3 Tagen Trypanosomen im Schwanzblut, etwas widerstandsfähiger sind die bunten gefleckten Ratten, welche aus Kreuzungen von weissen Ratten mit Wanderratten hervorgegangen waren. Hier treten die Trypanosomen erst nach 4 bis 5 Tagen auf. Noch resistenter sind die grauen Ratten, hier finden wir die Trypanosomen erst am 5. bis 7. Tage im Blute. Aehnlich wie bei den Mäusen nimmt die Zahl der Trypanosomen täglich zu, auch hier werden enorme Mengen beobachtet, derart, dass sie die Anzahl der rothen Blutkörperchen überragen. Bei grauen Ratten tritt aber noch der bemerkenswerthe Unterschied auf, dass die Thiere die Trypanosomen bewältigen können und es so ähnlich wie beim Pferd zum nahezu vollständigen Verschwinden derselben kommen kann, so dass man sie nicht mehr nachweist im hängenden Tropfen. Aber nach 5 Tagen treten sie dann wieder auf, nun aber kommt es kaum noch zu solch enormen Vermehrungen, dem erneuten Ansturm pflegt die Ratte leicht zu erliegen. Ich betone noch, dass es immer nur ein Bruchtheil der Ratten ist, der derart widerstandsfähig ist, die meisten erliegen der ersten Attaque.

Man sieht also, dass die Ratten ein klein wenig widerstandsfähiger sind, wie die Mäuse. Bei der Section findet man übrigens ähnliche pathologische Veränderungen, wie bei Mäusen.

Kaninchen.

Auch Kaninchen sind für die Infection empfänglich, sie erliegen auch ausnahmslos, aber doch machen sich Mäusen und Ratten gegenüber einige recht bemerkenswerthe Abweichungen geltend. Einmal ist die Krankheit bedeutend länger dauernd, etwa 1 bis 3 Monate. Dann aber beobachtet man bei den Blutuntersuchungen, dass die Trypanosomen äusserst spät im Blute auftreten. Ich habe bei täglichen Untersuchungen sogar in 4 Wochen keine Trypanosomen nachweisen können. Die Thiere sind Wochen lang

munter, magern aber schliesslich auch ab. Das Fieber ist ganz unregelmässig. Ich habe Fiebersteigungen auf 42° beobachtet, ohne dass vorher oder während desselben die Trypanosomen aufgetreten wären. Im Verlaufe der Erkrankung haben wir an den Augen und Nasen der Thiere eigentümliche Veränderungen beobachten können. Die Thiere bekommen Catarrhe der Conjunctiven, die Augen thränen, werden trübe, sondern ein eitriges Secret ab, durch das die Augenlider verklebt werden, allmählich gehen so die umgebenden Haare aus und das Sehvermögen wird schliesslich beträchtlich vermindert. Es müsste der Totalverlust des Auges eintreten, wenn die Thiere nicht vorher stürben. Diese Vorgänge spielen sich auf beiden Augen gleichzeitig ab. Auch an der Nase kommt es zu entzündlichen Erscheinungen, die zu Verklebungen der Haare und Haarausfall führen. Bei männlichen Kaninchen beobachtet man Anschwellung der Hoden, ohne dass der Penis betheiligt wäre. Die Hoden können aufbrechen und an secundärer Infection vereitern. Im entzündeten Hoden finden sich ebenfalls Trypanosomen. Auch an der Vulva der weiblichen Thiere beobachtet man ähnliche entzündliche Erscheinungen mit Borkenbildung u. s. w., so dass sogar Kothstauung hervorgerufen werden kann.

Beim Tode der Kaninchen finden wir die Trypanosomen in allen Organen in ähnlicher Weise vertheilt, wie bei den bereits erwähnten Thieren. Auch Milzschwellung und seröse Exsudate fehlen nie. Es kann aber vorkommen, dass die Thiere ähnlich wie die Pferde in einem Moment sterben, wo keine Trypanosomen nachweisbar sind.

Das Kaninchen ist somit bereits bedeutend resistenter, als Mäuse und Ratten, zu Studien über Trypanosomen ist es aus diesem Grunde auch wenig geeignet.

Hunde.

Auch der Hund ist empfänglich für Trypanosomen. Wir haben einen Hund verloren, der immer das Fleisch von den getödteten Pferden frass. Man soll sich aber nicht vorstellen, dass die Infection nun per os erfolgt sei. Wir müssen annehmen, dass die Trypanosomen durch irgend eine Wunde Eingang in die Blutbahn gefunden haben, was um so sicherer war, als besagter Hund oft Wunden hatte, da er sich immer mit anderen Hunden biss. Hunde leben etwa 2 bis 3 Monate. Allmählich werden sie stumpfer, magern ab, hören nicht mehr auf Anruf, schlafen, verkriegen sich in dunkle Ecken und bekommen einen dicken Kopf (Bulldoggengesicht) in Folge von Oedemen, die besonders die Augenlider betreffen. Die Conjunctiva wird dann in Mitleidenschaft gezogen und beobachtet man auch Secretabsonderungen, ähnlich, wie bei den Kaninchen. Die

Wimpern vereitern wie auch die umstehenden Haare. Das Sehvermögen leidet ebenfalls durch diese chronische Conjunctivitis.

Sehr auffallend sind auch Oedeme des Scrotums, die durch die Anschwellung der Testikel bedingt sind. Diese Schwellung kann auch gänzlich fehlen, oder auch nur temporär auftreten. Der Penis ist dabei nicht betheiligt.

Bei der Section findet man Milzschwellung und seröse Exsudate der Körperhöhlen. Auch die Trypanosomen vermisst man nicht. Der Hund kann aber auch verschiedene Attaquen aushalten, da es Tage giebt, an denen keine Trypanosomen im Blute gefunden werden. Im Uebrigen unterscheiden sich die Hundetrypanosomen in nichts von denen, die man bei Pferden findet. Man kann die Empfänglichkeit des Hundes etwa gleichstellen mit der des Kaninchens, vielleicht, dass sie etwas geringer ist.

Schafe und Ziegen

erliegen ebenfalls der Infection, sie leben einige Monate ohne besondere Krankheitsmerkmale zu zeigen, schliesslich magern sie ab und sterben plötzlich ohne Vorboten. Die Trypanosomen findet man wie beim Pferd nur periodisch beim Schaf, für die Ziege sind diese Versuche noch nachzuholen.

In der Empfänglichkeitsscala folgen diese Thiere etwa dem Hunde.

Hier möge noch erwähnt werden, dass wir auch einen Affen Nictipithecus Felinus tödten konnten; aus Mangel an Thieren konnten die Versuche indess nicht weiter ausgedehnt werden. Ebenso sterben Katzen nach etwa 4 Wochen, ohne während des Krankseins besondere Symptome gezeigt zu haben. Endlich haben wir 2 Nutria, welche Dr. Zabala geschenkt bekommen hatte, tödten können. Diese Thiere sind ausserordentlich empfänglich, wie die Ratten und Mäuse, der Tod tritt unvermuthet und plötzlich ein, etwa nach 10 Tagen.

Eine besondere Besprechung verdienen noch die Studien, die wir am

Meerschweinchen

gemacht haben. Meerschweinchen sind bedeutend weniger empfänglich als die anderen Thiere, die wir oben erwähnt haben. Es sterben ungefähr die Hälfte oder zwei Drittel der geimpften Thiere. Man kann aber am Meerschweinchen ganz besonders das Schicksal der Trypanosomen verfolgen, wenn man die Thiere intraperitoneal impft, indem man jeder Zeit mittels feiner Capillarröhrchen aus der Bauchhöhle eine Exsudatprobe herausholen kann. Untersucht man nach 24 Stunden das Exsudat im Mikroskop, so findet man noch zahlreiche, wohlbewegliche Trypanosomen neben einer grossen Menge von rothen und einigen weissen

Blutkörperchen. Macht man nach Romanowsky Färbungen, so bemerkt man einige Besonderheiten, eine Reihe der Trypanosomen hat eine unregelmässige Gestalt angenommen, das Plasma färbt sich weniger intensiv. Diese Bilder könnten den Anschein erwecken, als ob es sich um destructive Vorgänge handelte, ein Urtheil, zu dem man unfehlbar kommen muss, wenn man nicht die Kerntheilung berücksichtigt. Diese zeigt aber sofort, dass es sich um Bestrebungen von Seiten der Trypanosomen handelt, sich zu vervielfältigen, der Vorgang ist indess kein degenerativer, sondern ein regenerativer. Untersuchen wir so täglich diese Thiere weiter, so zeigt sich, dass allmählich die Zahl der rothen Blutkörperchen abnimmt, bis sie nach ca. 5 bis 8 Tagen (je nach Menge derselben) einigermaassen verschwunden sind. Dagegen finden wir an deren Stelle nun allmählich eine grosse Menge Leukocyten, die so zahlreich sind, dass das Exsudat nur zähflüssig ist. Die Trypanosomen nehmen allmählich im Exsudat ab. Aber man findet noch nach 7 Tagen eine genügend grosse Menge, die nur dadurch, trotz Abgabe einer Anzahl derselben aus Blut, erklärlich erscheint, dass im Peritoneum selbst Neubildungen erfolgen. Wenn aber auch die Neubildung, wie man sie mit Hülfe von Romanowsky's Färbung jeder Zeit erkennen kann, vorhanden ist, so machen sich auf der anderen Seite Abwehrbestrebungen — als welche wir ja auch das Einwandern von Leukocyten auffassen müssen, bemerkbar, dem viele Trypanosomen erliegen, so dass nach einem verschieden langen Zeitraum die Trypanosomen aus dem Bauch verschwinden, theils weil sie in das Blut übergegangen sind, theils weil sie zerstört sind. Die Möglichkeit, Trypanosomen zerstören zu können, ist überhaupt beim Meerschweinchen eine ganz bedeutend hohe, wie die Heilungsprocesse zeigen. Die Meerschweinchen, welche sterben, sterben in der Regel im 2. bis 5. Monat nach der Infection, später ist das nur ausnahmsweise der Fall. Wir haben Meerschweinchen, die über ein Jahr gelebt haben, dick und gross geworden sind und verschiedentlich Junge gehabt haben; männliche Meerschweinchen verlieren meist die Zeugungsfähigkeit. Ein eigenthümliches Resultat ergab ein Versuch, in dem ein Meerschweinchen (gesund geworden?) nach 2 Monaten mit 2 ^{ccm} Trypanosomblut geeimpft wurde. 20 Minuten nach der Impfung war das Thier sehr elend, sass da mit gestreubtem Haar, eingezogenen Flanken, hatte Husten und Erbrechen, die Athmung war vermehrt und krampfartig. Die Temperatur fiel in $1\frac{1}{2}$ Stunden bis auf 27^{0} C. Am Abend des Tages erholte sich das Thier allmählich, am andern Morgen war es wieder vollkommen gesund. Das zur Infection verwandte Blut war völlig bakterienfrei, wie Culturen ergaben, auch war es ganz frisch vom Pferd entnommen. Die Dosis von 2 ^{ccm} Blut schadet an sich den Meerschweinchen nichts. Die Trypanosomen konnten noch am 3. Tage nach der Infection, wenn auch

spärlich, im Bauchhöhlenexsudat nachgewiesen werden. Es zeigte sich jedoch, dass die zu verschiedenen Zeiträumen aus der Bauchhöhle entnommenen Trypanosomen schon nach 1 bis 2 Stunden im hängenden Tropfen abgetödtet und zerstört waren, woraus geschlossen werden muss, dass dieses Thier über Kräfte verfügt, — welche dem normalen Meerschweinchen fehlen — die eine Zerstörung der Trypanosomen in gewissem Umfange bedingten, wodurch dann wohl die rapide Intoxication, um die es sich handelte, erklärt werden mag. Es scheint sich hier entschieden um beginnende Immunitätsäusserungen zu handeln, wofür bereits noch anderweitige Beobachtungen vorliegen, auf die ich später eingehen will.

Das Rind

ist das einzige Thier, welches unempfänglich für das Mal de Caderas zu sein scheint. Wir haben ein Thier über 1 1/2 Jahr im Versuch und trotz Impfungen mit grössten Dosen trypanosomahaltigen Blutes ist es vollkommen gesund und nimmt an Gewicht ständig zu.

Auch auf Nichtsäugethiere ist die Krankheit übertragbar. Von den

Vögeln

haben wir Hühner, Enten und Puter nach subcutaner, wie intraperitonealer Infection tödten können. Hühner erliegen in der 2. bis 3. Woche, sie magern stark ab, zeigen während des Lebens sonst keine besonderen Krankheitserscheinungen, einige Stunden vor dem Tode fallen sie um und liegen dann in Agone bis zum Tode. Bei der Section ist die Haut wie die Musculatur auffallend trocken. Der Nachweis der Trypanosomen gelingt nur äusserst schwer.

Ich will hiermit die Besprechung der Impfversuche zu Uebertragungszwecken schliessen. Wir sehen, dass das Trypanosoma im Allgemeinen ein äusserst gefährlicher Krankheitserreger ist, gegen den die meisten Thiere völlig hülflos sind, sobald die Infection einmal geschehen ist.

Der Modus der Ausbreitung der Trypanosomen ist, nachdem die Infection stattgefunden, immer der gleiche. Bei subcutaner Impfung kommt es local kaum zu nennenswerthen Veränderungen, eine diagnostisch sehr wichtige Thatsache. Die Trypanosomen gelangen durch die nächstgelegenen Lymphspalten in die Lymphbahn, frühzeitig constatirt man dann auch die Schwellung der Lymphdrüsen, die manchmal (bei Mäusen und Ratten besonders) ausserordentliche Dimensionen annehmen können. Hier wird aber nicht Halt gemacht, sondern die Blutbahn inficirt, womit die allgemeine Körperinfection gegeben ist. Bei intraperitonealer Infection findet directe Vermehrung im Peritoneum (Meerschweinchen) statt, von

hier aus geht das Virus ebenfalls durch Vermittelung der Lymphwege in das Blut. Diese Umwege vermeidet die directe Impfung in die Blutbahn.

Zum Studium der Entwickelung der Trypanosomen eignet sich ganz besonders Maus und Ratte, sowie das Meerschweinchen (Bauchhöhle), während die in anderen Thieren sich abspielenden mehr unregelmässigen Vorgänge weniger günstig für derartige Untersuchungen sind.

Die Ernährung dieser Trypanosomen scheint hauptsächlich auf Kosten der rothen Blutkörperchen zu erfolgen. In jedem hängenden Tropfen kann man eine Anzahl derselben finden, die sich mit dem Schnabelende fast bis zur Hälfte des Protoplasmaleibes ganz eng an ein rothes Blutkörperchen angeschmiegt haben, ja es hat manchmal den Anschein, als seien sie direct in die Zellen eingedrungen, sie allmählich aussaugend und zerstörend. Damit erklärt sich ungezwungen der enorme Zerfall der Erytrocyten und die Hämoglobinausscheidung. Wenn wir uns nun fragen, sind die Trypanosomen wirklich die Erreger der Krankheit, so müssen wir die drei Koch'schen Postulate beweisen.

Beweise:

1. Der Erreger findet sich in jedem unter den Symptomen des Mal de Caderas erkrankten Thier. Dabei ist zu berücksichtigen, dass viele Pferde die Lähmungen nicht zeigen, aber doch die Krankheit haben mit Fehlen dieses Symptoms. Auch in diesen Fällen ist das Trypanosoma vorhanden, und erzeugen Blutimpfungen von diesen Pferden wieder ganz typisches Mal de Caderas.

2. Alle klinischen und pathologisch-anatomischen Erscheinungen finden ihre einfachste Erklärung in der Annahme des Trypanosoma equina als Erreger der Krankheit.

3. Die Krankheit lässt sich mittels der Trypanosomen reproduciren.

Der Beweis somit, dass das Trypanosoma equina der Erreger der Krankheit ist, dürfte als erbracht erscheinen.

Nun taucht aber noch eine andere Schwierigkeit auf, dadurch, dass man mir entgegengehalten hat, dass die durch Trypanosoma erzeugte Krankheit keine bestimmte abgegrenzte sei, sondern eine der bekannten Trypanosomenkrankheit, mithin Trypanosoma equina identisch sei mit schon bekannten Trypanosomen.

In der Gattung Trypanosoma begegnen wir einer Reihe alter Bekannter. Man findet Trypanosomen als harmlose Schmarotzer in dem Blute einer Reihe von Fischen, andere in Fröschen. Auch in Südamerika sind nach persönlichen Mittheilungen des mir befreundeten Professor Dr. Robert Wernicke Trypanosomen im Froschblut eine alltägliche Beobachtung.

Diese bei niederen Thieren vorkommenden Trypanosomen kommen für uns nicht in Betracht, da sie nicht pathogen sind.

In einer hiesigen Tageszeitung hat mir ein sachverständiger Anonymus vorgeworfen, mein Trypanosoma sei identisch mit dem bei Ratten gefundenen. Diese sind im Jahre 1877 von Lewis[1] zuerst entdeckt, später von Kent, Evans, Crookshank, Carter, Danilewsky, Schalaschnikoff-Lingard studirt und für identisch gehalten mit dem bei Surra beobachteten Trypanosomen. Erst R. Koch stellt sie als besondere Species auf und machte auf ihre Unterschiede gegenüber anderen Trypanosomen aufmerksam. Ihre Entwickelung zu kennen, verdanken wir der interressanten Arbeit von Rabinowitsch-Kempner, welche den Vorzug hat, unter R. Koch's Auspicien entstanden zu sein.

Vergleichen wir das Trypanosoma equina mit dem Rattentrypanosoma, so ergiebt sich allerdings eine weitgehende Uebereinstimmung. Die Form beider ist zum Verwechseln ähnlich, ihre Entwickelung, soweit das bis jetzt festgestellt ist, ganz die Nämliche. Trotzdem sind beide grundverschieden.

Wir haben zahlreiche wilde wie zahme Ratten auf Trypanosoma untersucht, aber bislang nie ein solches Lebewesen entdecken können. Auch Robert Wernicke hat früher zahlreiche Untersuchungen in dieser Richtung angestellt, ebenfalls mit negativem Resultat. Dieses ist in der That schon recht auffallend und lässt es mindestens zweifelhaft erscheinen, dass die beiden Trypanosomaarten identisch sind.

Entscheidend aber für die Differenzirung beider Arten sind aber die Uebertragungsversuche auf andere Thiere.

Vandyhe Carter (bei Bütschli s. oben) verimpfte Rattentrypanosoma auf Hunde, Katzen, Pferde und Affen. Die Versuche fielen negativ aus, die Blutparasiten konnten im Blute zu keiner Zeit nachgewiesen werden.

R. Koch sagt in seinem Reisebericht, „die Uebertragung von Rattentrypanosomen auf andere Thiere als Ratten, ist mir bisher nicht gelungen. Im Blute von Ratten, welche bereits Rattentrypanosomen hatten und überdies mit Surrablut geimpft waren, konnte ich beide Parasiten neben einander beobachten. Wurde solches Rattenblut, welches also beide Parasiten enthielt, auf einen Hund verimpft, dann erkrankte derselbe an Surra, er hatte in seinem Blute nur die Surraparasiten. Die Rattentrypanosomen, für welche der Hund unempfänglich ist, waren verschwunden; ein Beweis dafür, dass sie verschiedenen Arten angehören."

[1] Lewis. Die nicht angegebene Litteratur findet sich in der Arbeit von Lydia Rabinowitsch und Walther Kempner besprochen und angegeben. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXX. S. 251 ff.

Weiter sagen Rabinowitsch-Kempner[1]: „Es ist uns bisher nicht gelungen, die Rattentrypanosomen auf eine andere Thierspecies zu übertragen, so mannigfaltige Untersuchungen wir auch in dieser Richtung angestellt haben. Wir fanden wohl hier und da bei intravenöser Injection in den ersten Tagen einige Parasiten im Blute wieder, zu einer eigentlichen Vermehrung ist es jedoch nie gekommen. Wir experimentirten vergeblich an weissen und grauen Mäusen, Feldmäusen, Meerschweinchen, Kaninchen, Hund, Ziege und Pferd."

Eine kurze Recapitulation unserer oben erwähnten Thierversuche genügt, glaube ich, um unter Berücksichtigung der eben mitgetheilten Versuche Koch's und seiner Schüler jeden Gedanken an eine auch nur mögliche Identificirung der beiden Trypanosomaarten von der Hand zu weisen. Selbst die vage Annahme von Virulenzschwankungen wird da Niemand auch nur aufstellen können, da etwas Derartiges weder bei dem einen noch bei dem anderen Trypanosoma je beobachtet ist.

1881 beschrieben R. Koch und v. Wittich Trypanosomen bei Hamstern.

Hamster kommen in Amerika überhaupt nicht vor, ob bei seinem Verwandten, dem Viscacha, Trypanosomen vorkommen, ist mir nicht bekannt geworden. Rabinowitsch-Kempner sagen: „Hamster, deren Blutparasiten von den Rattentrypanosomen morphologisch kaum zu differenziren sind, waren für letztere nicht empfänglich. Umgekehrt gelang es uns ebenfalls nicht, die Hamstertrypanosomen auf Ratten zu übertragen."

Trypanosoma equina ist ausserordentlich infectiös für Ratten, mithin sind auch diese zwei Arten gewiss ganz verschieden von einander.

Weit eher wäre eine Verwechselung des Mal de Caderas mit der Beschälseuche der Pferde möglich. Diese im Jahre 1796 zuerst in Deutschland beobachtete Krankheit hat sich allmählich in ganz Europa, Algier und Syrien ausgebreitet. Diese Krankheit beginnt mit ödematöser oder phlegmonöser Schwellung des Genitalapparates, dem folgt eine Allgemeinerkrankung, wobei vorwiegend das Rückenmark in Form einer spinalen Lähmung, sowie die Haut in Form einer Vasoneurose (Urticaria), betroffen wird (Friedberger und Fröhner s. oben). Daneben magern die Thiere bis zum Skelett ab, namentlich in der Hinterhand, so dass die Contouren der Beckenknochen und der Rippen stark hervortreten. Die Haut ist trocken, die Haare gesträubt und glanzlos. Das Sensorium ist getrübt, die Thiere gehen an Kachexie, Decubitus, hypostatischer Pneumonie zu Grunde. Die Krankheit dauert $^1/_2$ bis 1 Jahr, zuweilen 2 bis

[1] A. a. O.

4 Jahre (diese Beobachtungen sind gewonnen an bestem Zuchtmaterial, Thieren, die natürlich weit widerstandsfähiger sind als unsere Thiere). Die Mortalität beträgt 70 Procent.

Klinisch, das muss man ohne Weiteres eingestehen, besteht eine ausserordentliche Aehnlichkeit zwischen beiden Krankheiten.

Diese Aehnlichkeit wird noch weiter geführt dadurch, dass es jüngst gelungen ist, ein Trypanosoma als Ursache der Erkrankung nachzuweisen. Chauvrat[1] sah es zuerst 1892, später studirte es Bouget genauer und jetzt liegt eine ausführlichere Arbeit von Schneider und Bussard vor. Das Trypanosoma zeigt sich im Blute als aalförmig, lebhaft sich schlängelnder Parasit, der bei 36° bis zu 48 Stunden solche Bewegungen ausführt; das eine Ende des Parasiten ist schnabelförmig, das andere lang geisselförmig ausgezogen. Letzteres ist nach Ansicht der Autoren das Kopfende.

Der Parasit wird periodisch im Blute in grösserer oder geringerer Menge gefunden. Die Oedeme werden durch Capillarverstopfung erklärt. Es werden die rothen Blutkörperchen zerstört. Durch Impfung lässt sich die Krankheit auf Pferde, Hunde, Kaninchen, Ratten, Mäuse und Esel übertragen.

Die bei diesen Thieren, namentlich bei Hunden, hervorgerufenen Symptome gleichen ganz den bei Mal de Caderas beobachteten. Immerhin findet sich ein Merkmal, welches auf die Verschiedenheit der beiden Krankheiten hinzudeuten scheint, das ist der Quaddelausschlag bei der Beschälseuche. Es treten dort besonders auf der Kruppe, am Halse, Schulter, Brust und Bauch Flecken auf, markstück- bis thalergross und grösser, flach erhaben, rundlich bis fingerdick. Sie entstehen oft sehr rasch und können auch plötzlich wieder verschwinden und an anderen Körpertheilen auftreten. Meist bestehen sie jedoch mehrere Wochen, wobei sie allmählich etwas härtere Consistenz erlangen und verschwinden langsam.

Diese Flecken sind in den zahlreichen Experimenten, die wir an Pferden anstellen konnten, nie beobachtet. Es scheint das eine sehr zu beachtende Thatsache zu sein, denn auch die anderen Autoren, die Mal de Caderas gesehen und studirt haben, erwähnen nichts von den Quaddeln.

Auch die an den Geschlechtsorganen vorkommenden Veränderungen haben wir bei Pferden nie beobachten kännen. Es will das aber nichts weiter bedeuten, wenn wir bedenken, dass die Eintrittspforte des Virus nicht die Geschlechtsorgane waren. Bei Hunden und Kaninchen gewahren wir ausserdem die gleichen Veränderungen wie sie das Trypanosoma der Beschälseuche verursacht. Bei der Spontanerkrankung im Camp hat man

[1] Siehe Referat: *Deutsche thierärztl. Wochenschrift.* 1900. S. 234—235.

auch keine Geschlechtserkrankungen beobachtet, aber es will das nichts besagen, wenn wir berücksichtigen, dass die Infection nicht durch den Begattungsakt erfolgt. Bei der völligen Uebereinstimmung der bei beiden Krankheiten beobachteten Trypanosomen, bei der Identität der Thierversuche, die mit beiden Erregern angestellt werden konnte, wage ich es vorläufig nicht, zu entscheiden, ob sie identisch sind oder nicht. Ich muss auf den Gegenstand noch einmal zurückkommen bei der Besprechung der natürlichen Infection, und will vor der Hand die noch übrig bleibende Trypanosomakrankheit besprechen, die ebenfalls zu Verwechselungen mit dem Mal de Caderas geführt haben, der Surra. Diese Krankheit ist von Lingard[1] zuerst in Indien studirt, von Bruce[2] ist dann das Trypanosoma entdeckt, aber noch von Beiden mit dem Rattentrypanosoma verwechselt, erst Koch[3] führte die Differenzirung beider Arten durch, von Plimmer und Bradford ist der Entwickelungsgang des Trypanosomas studirt. Die Krankheit kommt hauptsächlich beim Rindvieh vor, dann aber auch bei Pferden, Eseln, Kameelen, Elephanten (s. ob. Autoren). Künstlich übertragbar ist sie auf Ratten, Hunde (Koch), Kaninchen, Katze, Maus (Plimmer, Bradford).

Bei Pferden verläuft die Krankheit gewöhnlich wie beim Mal de Caderas, mit Auftreten von perniciöser Anämie, Abmagerung und Kachexie. Man hat nun behauptet, dass diese Krankheit mit der Beschälseuche identisch sei und nennt die letztere eine milde abgeschwächte Form derselben. Ich glaube, das ist aus verschiedenen Gründen ebenso wenig der Fall, als dass sie identisch wäre mit dem Mal de Caderas. Diese Gründe sind folgende:

1. Beschälseuche und Mal de Caderas sind nicht auf Rindvieh übertragbar, während gerade das Rindvieh von Surra befallen ist.

2. In den Mal de Caderas-Gegenden stirbt das Rindvieh nicht in Folge einer Surrakrankheit.

3. Wir haben keinerlei Anhaltspunkte dafür, dass die Trypanosomen ähnliche Virulenzschwankungen zeigen wie die Bakterien, dass man die verschiedenen Krankheitsformen als durch verschieden virulente Trypanosomen hervorgebracht ansehen könnte. Im Gegentheil, in unseren vierjährigen Experimenten hat sich die Virulenz immer als constant erwiesen. Alle die Einflüsse, von denen wir wissen, dass sie die Virulenz der

[1] A. Lingard, *Summary of further report on Surra.* Government Centralpress [Bombay] 1894 u. 1897.

[2] D. Bruce, *Preliminary report on the tsetse-fly disease or Nagana in Zululand, Durban, Natal.*

[3] A. a. O. *Reisebericht.*

Bakterien beeinflussen, haben keinen Effect auf das Trypanosoma, wie z. B. Wärme oder Verimpfung auf verschiedene andere Thierrassen u. s. w. Es scheint etwas Derartiges nicht bei den Trypanosomen zu geben, entweder sie bleiben bei den verschiedenen Manipulationen am Leben und sind immer von der gleichen Infectionstüchtigkeit oder sie sterben eben ab. Eine Berechtigung, die Trypanosomen der Beschälseuche und des Mal de Caderas etwa als abgeschwächte Surraparasiten aufzufassen, die Kühe nicht mehr attaquiren, wohl aber noch Pferde, ist durch Nichts begründet.

Ausschlaggebend dürfte aber der vierte Grund sein.

4. Koch sagt in seinem Reisebericht, S. 70: „Es wurden Ratten, sämmtlich in Daressalam, aber in verschiedenen Häusern gefangen, untersucht und in der That im Blute Parasiten gefunden, welche den Surra-Parasiten auf den ersten Blick gleich zu sein schienen, sich aber doch bei weiterer Untersuchung als eine von diesem verschiedene Tryponosoma-Art herausstellten. Sie sind etwas länger und schlanker als Surra-Trypanosoma und unterscheiden sich von demselben besonders dadurch, dass das Kopfende in einen langen, schnabelartigen Fortsatz ausläuft, während der Surra-Parasit am Kopfe fast stumpf endigt.“ (S. auch die Figuren.)

Plimmer-Bradford[1] drücken sich in Bezug auf das Kopfende etwas unbestimmter aus, wenn sie von „dicker, steifer Spitze“ reden.

Wo Koch ausdrücklich von diesem Formunterschied des Kopfendes redet, unterliegt es für mich keinem weiteren Zweifel mehr, dass die Form beider Trypanosomen verschieden ist und damit die Krankheiten durch verschiedene Erreger bedingt sind. Nun hat aber das Trypanosoma equina ähnliche Form des Schnabels wie das Rattentrypanosoma, mithin ist es ausgeschlossen, dass es sich um Surra-Trypanosoma handelt.

Ich denke, diese vier Beweise genügen vollkommen, um sowohl die Verschiedenheit zwischen Surra und Beschälseuche, als auch zwischen Surra und Mal de Caderas für immer sicher zu stellen.

Wenn wir nun das Trypanosoma equina nur bei Mal de Caderas-kranken Pferden aber nie bei gesunden finden, wenn wir seine streng specifische Bedeutung und Wirkung gegenüber allen ähnlichen Krankheiten festhalten müssen, wenn wir ferner gesehen haben, wie sowohl verschiedene Trypanosomen wie auch andere im Blute kreisende kleinste Lebewesen (Filaria bei Hunden s. oben) immer wiederkehrend ähnliche und gleiche Krankheitsformen hervorrufen, so dürfte damit die Stellung des Trypanosoma equina wohl zur Genüge gesichert sein.

[1] A. a. O.

Es entsteht nun die grosse Frage, wie findet die Spontaninfection mit dem Trypanosoma statt. Die Frage ist nicht einfach zu beantworten und noch nicht definitiv gelöst.

Aus den oben mitgetheilten Experimenten geht hervor, dass das Trypanosoma immer nur durch Wunden, Stiche u. s. w. in den Körper gelangt, nie mit dem Futter u. s. w. Wie findet nun diese Einimpfung statt? Durch Rabinowitsch-Kempner wissen wir, dass bei der Rattentrypanosomakrankheit die Flöhe die Uebertragung vermitteln, das Blut der kranken Thiere saugend und auf gesunde überimpfend beim Stich.

Durch die schöne Arbeit von Bruce wissen wir, dass die Tsetsefliege in ähnlicher Weise die Blutübertragung bewirkt und diese Thatsache ist durch Koch selbst in Ostafrika bestätigt. Durch Ross und Koch wissen wir, dass die Malaria durch Mosquito allein übertragen wird, welche das Blut von kranken Vögeln bezw. Menschen saugen, während das Plasmodium sogar im Mosquito noch einen ganz besonderen Entwickelungscyclus durchmacht.

Durch Smith und Kilborne[1] wissen wir, dass das Texasfieber durch blutsaugende Zecken (Boeophilus bovis) verbreitet wird.

Nach Manson übernehmen Mosquito in Japan und China die Filariainfection.

All' diesen Seuchen, die gewisse Beziehungen zum Mal de Caderas haben, steht die Beschälseuche gegenüber, die allein durch den Beschälakt übertragen wird.

Es ist das eigentlich geradezu wunderbar, dass nicht auch diese Trypanosomenkrankheit durch Zwischenwirthe (Blutsauger) übermittelt wird und in der That, wenn wir sehen, wie wir durch den kleinsten Impfstich mit Trypanosomablut die Krankheit übertragen können, so kann man sich diese sonderbare Thatsache nur dadurch erklären, dass man annimmt, es fehlt an einem geeigneten Blutsauger, und wäre der da, so würde man sicher die Beschälseuche nicht mehr als solche bezeichnen, sondern als eine mörderische Pferdesterbe. Für den Norden Europas braucht man das kaum zu fürchten. Die Trypanosomen sind relativ gebrechliche Gebilde und ausserhalb der Blutbahn sterben sie bei niederen Temperaturen rasch ab. Anders aber mögen sich die Dinge gestalten, wenn die Seuche, wie das jetzt in der That bereits der Fall ist, sich nach Afrika (Algier) ausgebreitet hat. Da scheint mir, dass die grösste Besorgniss vorhanden ist, dass wir eine allgemeine Pferdesterbe züchten, die womöglich als neue

[1] Th. Smith and Kilborne, Investigations into the nature, causation and prevention of texas or wathern cattle fever. (*Bullet. of 1. U. S. Depart. of Agriculture.* Bureau of animal Industry. Washington 1893.)

Krankheit studirt werden könnte. Erfolgt dann die Masseninfection nicht mehr vom Genitalapparat aus, sondern von der Haut aus, so werden auch die Primärerscheinungen nicht mehr „syphilisartig“ sein und die Differentialdiagnose zwischen Beschälseuche und Mal de Caderas wird äusserst schwer, ja unmöglich sein.

Wer will nun behaupten, dass dies nicht längst im subtropischen und tropischen Südamerika geschehen sei? Mir fehlt dazu nur noch der Nachweis, dass auch Genitalerkrankungen beim Mal de Caderas vorkommen, ich lasse in dieser Richtung noch Nachforschungen anstellen, auf deren Resultat ich äusserst gespannt bin.

Jedenfalls geht aus all' dem gesammelten Material, aus all' den Experimenten hervor, dass das Mal de Caderas ebenfalls durch einen Blut saugenden Zwischenwirth verbreitet wird.

Welcher Art ist nun derselbe?

Dieser Zwischenwirth kann nur in warmen Zonen fortkommen, da sonst kein Grund vorläge, warum das Mal de Caderas sich nicht weiter nach dem Süden ausbreitet und warum wir im Laboratoriumsstall keine Infectionen erlebt haben, wo nur ein einziges Mal eine Spontaninfection erfolgte, über deren Zustandekommen nur Vermuthungen angestellt werden könnten.

Auf meine Anfrage erhielt ich vom Gouvernement von Formosa ein sehr interessantes Schreiben.

Es giebt eine ganze Reihe blutsaugender Insecten, die die Pferde stechen. Es sind das Tabanus, von denen es nach einer Mittheilung der besten argentinischen Autorität in diesem Fach, des Directors des zoologischen Museums hier, Dr. Berg, eine ganze Anzahl verschiedener Varietäten giebt; die Mosca brava, eine Fliegenart, die der Tsetsefliege ganz ausserordentlich ähnlich ist, die verschiedensten Mosquitoarten, ferner die unter dem Namen Polvorin und Jejene bekannten Insecten. Endlich kommen noch die Blutegel in Betracht.

Es ist nothwendig, mit allen diesen blutsaugenden Thieren Versuche anzustellen.

Wir haben dabei zu berücksichtigen, dass man beobachtet hat, dass bestimmte Beziehungen der Krankheit zu den Regengüssen und Vorkommen von Sümpfen vorhanden sind. Von dieser Vorstellung ausgehend haben wir Versuche mit Blutegeln angestellt, dieselben sind aber wiederholt negativ ausgefallen, da der Blutegel wohl saugt, aber nicht sticht. Versuche mit stechenden Insecten, unter denen vor allem die Mosca brava wichtig zu sein scheint, sollen noch gemacht werden.

Es kann sich dabei vor allem nur um Zwischenwirthe handeln, welche nur in der wärmeren Zone vorkommen, da sonst nicht verständlich wäre,

warum die Seuche nicht in die kälteren Zonen übergreift und andererseits die Krankheit bei Pferden u. s. w. ganz gleich in Buenos Aires wie in Paraguay verläuft.

Die Lücke, die hier noch auszufüllen bleibt, braucht uns aber keineswegs zu hindern, uns nach Maassnahmen umzusehen, um die Krankheit zu bekämpfen, was schliesslich doch der Endzweck unserer ganzen Studien ist.

Wir können die Mittel, die wir haben um Krankheiten zu bekämpfen, in zwei Gruppen theilen, erstens allgemeine Maassnahmen, zweitens die Anwendung speciell wirkender Mittel.

Seitdem man überhaupt angefangen hat, sich mit dem Studium der Krankheit zu beschäftigen, hat man nicht aufgehört, die verschiedensten Mittel zur Bekämpfung zu erproben und, wie das meist immer bei Laienexperimenten zu gehen pflegt, als erfolgreich anzupreisen.

Der wirklich positive Erfolg ist aber immer gleich Null geblieben und musste es auch bleiben, da das Wesen der Krankheit völlig unbekannt war. Nun aber kennen wir das Letztere genügend, um daraufhin doch schon eine Reihe äusserst praktischer Vorschläge machen zu können.

Unter den allgemeinen Maassnahmen stand früher obenan das Verbrennen der Cadaver. Diese Maassnahme kann man ruhig fallen lassen, nachdem wir wissen, dass schon nach 24 Stunden die Trypanosomen verschwunden sind. Es würde völlig genügen, die gefallenen Thiere zuzudecken, dass die Fliegen u. s. w. nicht daran können, nach 24 Stunden kann man ruhig das Fell abziehen und verwerthen. Ist auf einem Camp die Seuche ausgebrochen, so soll man die Thiere sofort fortbringen in ein anderes, hoch und trocken gelegenes Terrain, damit bringt man die Seuche am einfachsten zum Erlöschen. Als sehr zweckmässig würde es sich erweisen, die bereits erkrankten Thiere sofort zu tödten, da dieselben doch absolut keinen Werth mehr haben, weil sie dem sicheren Tode verfallen sind. Es hat sich ferner als genügend sichere Maassnahme erwiesen, wenn man die Thiere nicht, wie das bisher geschah, im freien Camp umherlaufen lässt, sondern sie im Stall hält, damit allein kann die Krankheit mit Bestimmtheit ferngehalten werden. Will man ein übriges thun, so kann man die Ställe ja mittels Drahtgazefenster und Drahtgazedoppelthüren so gut verschliessen, dass keine blutsaugenden Insecten Zutritt erlangen. Diese Maassnahme, welche auf den ersten Anblick hin etwas kostspielig und umständlich erscheinen mag, würde ich sofort dort vorschlagen, wo es sich um werthvolle Deckhengste handelt, welche man nie frei im Camp laufen lassen sollte. Es genügt diese Maassnahme gewiss, um die Infection fern zu halten.

Wenn man mit diesen Mitteln bereits recht gute Resultate gezeitigt hat, so steht zu erwarten, dass sich auch bei den in den Mal de Caderas-Distrikten stationirten Cavallerie-Regimentern die Sterblichkeit an Mal de Caderas bedeutend einschränken liesse, wenn man dafür Sorge tragen möchte, dass die Thiere in Stallungen gehalten würden.

Unter Anwendung all' dieser Maassnahmen wird sich gewiss schon sehr viel erreichen lassen.

Die aufgezählten Bekämpfungsmittel richten sich aber gemeinhin gegen die Ansteckung, aber es drängt sich doch auch der Wunsch auf, schon bereits erkrankte Thiere zu behandeln und zu heilen, handelt es sich doch oft um Zuchtthiere, die einen Werth von Tausenden repräsentiren. Wir haben deshalb grosse Versuchsreihen angestellt, um ein Heilmittel gegen diese Krankheit zu finden.

Es ist unleugbar, dass gewisse Analogieen zu der menschlichen Malaria bestehen und haben wir daher versucht, die von Koch erprobten Malariamittel auch beim Mal de Caderas anzuwenden. Wir haben erkrankten Pferden wochenlang Chinin und Methylenblau in grössten Dosen gegeben, aber ohne irgend welchen Erfolg darnach zu sehen.

Wir wissen, dass Enterol eine ausgezeichnete Desinfectionswirkung auf Bakterien im Körper ausübt und dabei gleichzeitig relativ ungiftig ist. Durch dieses Mittel schien der Tod nur beschleunigt zu werden, denn ein damit behandeltes Thier bekam nach jeder Dosis eine ganz profuse Diarrhoe, die immer mit dem Aussetzen desselben schwand.

Ferner gaben wir salicylsaures Natron auch ohne jeden Erfolg, nicht einmal das Fieber wurde durch dasselbe herabgedrückt.

Nach Mittheilungen von Dr. Kemmerich wollte man in Paraguay von einer Mischung von Terpentinöl und Kalium permanganatum gute Erfolge beobachtet haben, in unseren Versuchen haben wir davon gar nichts wahrgenommen.

Gegen das Pirosoma des Texasfiebers ist von verschiedensten Seiten Jodkalium empfohlen, wir haben von der Darreichung derselben beim Mal de Caderas keinen Effect gesehen.

Durch Baccelli ist festgestellt, dass man bei Lues ziemlich bedeutende Dosen von Sublimat in die Blutbahn einspritzen kann, ohne dass das geimpfte Individuum dadurch geschädigt wird. Der Erfolg bei Syphilis ist immerhin beachtenswerth. Intravenöse Sublimatinjectionen beim Mal de Caderas-Pferde sind nutzlos.

Der einzige spärliche Erfolg, den wir beobachten konnten, war bei der Anwendung von Acid. arsenicos. Das damit behandelte Pferd erholte sich sichtlich unter dem Einfluss des Mittels. Der Erfolg war aber nur ein vorübergehender, immerhin lebte das Thier bedeutend länger als

das Controlthier. Damit war die Wirkung des Mittels aber auch erschöpft. Diese Beobachtung stimmt mit der analogen bei der Beschälseuche gemachten überein, und auch Lingard schreibt dem Arsen einen gewissen Einfluss auf die Surratrypanosomen zu.

Ich möchte daher Veranlassung nehmen, an Stelle von etwas Besserem die Darreichung von Arsen zu versuchen in solchen Fällen, wo es sich um Expeditionen in Mal de Caderas-Gebieten handelt um so mehr, da das Arsen an sich schon einen guten Einfluss auf Pferde ausübt.

Die Reihe der von uns geprüften Chemikalien ist damit erschöpft, die Prüfung weiterer ist in Arbeit und ist es a priori nicht ausgeschlossen, doch noch zu einem positiven Resultat zu kommen. Neben diesen Experimenten hat es nicht an serumtherapeutischen Versuchen gefehlt. Diese sind in doppelter Richtung angestellt.

1. Man immunisirt wenig oder gar nicht empfängliche Thiere mit steigenden Dosen trypanosomahaltigen Blutes.

2. Man immunisirt empfängliche Thiere mit abgeschwächten Trypanosomen.

Ad 1. Das einzige bis jetzt gefundene Thier, welches man mit virulentem Materiale ungestraft impfen kann, ist das Rind.

Wir haben einen jungen Stier etwa $1^1/_2$ Jahre lang mit steigenden Dosen Blutes, welches Mal de Caderas-Pferden entnommen war, behandelt. Das Serum wurde am Pferd geprüft, welches 24 Stunden vorher mit Trypanosomen inficirt war. Der Ausbruch des Fiebers am fünften Tage wurde nicht verhindert, es sind dann dem betreffenden Pferde noch Hunderte von Cubikcentimetern desselben Serums eingeimpft, der Erfolg war ein völlig negativer.

Ad 2. Wir haben die Virulenz der Trypanosomen abzuschwächen versucht durch Formalin und durch Wärme. Beides gelingt insofern, als man die Trypanosomen leicht abtödten kann. Länger einwirkende Wärmegrade von 50 bis 60° tödten die Trypanosomen ab. Wir haben dann das die abgetödteten Protozoën enthaltende Blut in steigenden Dosen Pferden subcutan eingespritzt. Es erfolgt darnach eine vorübergehende Fieberreaction und locale Anschwellung. Die so behandelten Thiere erlagen indess, als ein einziges Mal die Abtödtung nicht vollständig gelungen war, obwohl sie schon vielfach geimpft waren. Eine irgendwie sichtbare Immunität wurde nicht erzielt. Ebensowenig constatirten wir eine Abschwächung der Trypanosomen. Es gab nur ein Zweierlei. Die Trypanosomen bleiben am Leben und verlieren ihre Virulenz nicht, oder sie verlieren ihre Virulenz, sind dann aber selbst todt.

Zu praktischen Ergebnissen haben diese Studien bisher nicht geführt.

Wenn somit alle Bemühungen, die Krankheit zu heilen, bisher noch zu keinen ausgesprochenen Erfolgen geführt haben, so müssen wir um so mehr unser Augenmerk darauf richten, der Krankheit wirksam vorzubeugen. So weit es sich dabei um ein Einzelthier handelt, habe ich die einzuschlagenden Maassnahmen bereits angegeben, aber unsere Aufgabe müssen wir weiter fassen und uns nach Mitteln und Wegen umsehen, um die Krankheit als solche auszurotten, dies werden wir selbst dann nicht umgehen können, wenn es gelingen könnte, ein Heilmittel gegen die Krankheit zu finden.

Die Aussichten, die Seuche als solche zu unterdrücken, sind aber um so aussichtsreicher, als dieselbe nicht allgemein verbreitet, sondern auf bestimmte Länderzonen beschränkt geblieben ist.

Das Mal de Caderas hat, wie ich das schon betonte, in mehr als einer Hinsicht grosse Aehnlichkeit mit der Malaria des Menschen. Das Beschränktsein auf gewisse Zonen, das Auftreten in gewissen Jahreszeiten, die Beziehungen zum Wasser und Sümpfen, die Blutinfection und der Zwischenwirth sind bei einer wie bei der anderen Krankheit.

Was hindert uns nun, das System der Krankheitsbekämpfung, welches wir bei der Malaria des Menschen erprobt haben, auch auf das Mal de Caderas zu übertragen?

Es haben sich bei der Malariabekämpfung zwei verschiedene Systeme ausgebildet, das der Italiener und das von Koch. Beide fussen auf den grundlegenden Arbeiten Koch's.

In Italien hat man versucht, den Zwischenwirth, den Träger der Infection, vom Menschen fern zu halten durch Erbauung mosquitosicherer Häuser, durch Tragen von Mosquitonetzen u. s. w. u. s. w. Es wird über die verschiedensten Erfolge berichtet. Mit R. Koch wird aber jeder annehmen, dass diese Erfolge immer nur Einzelerfolge bleiben müssen, die sich nicht auf die Allgemeinheit übertragen lassen. In Argentinien ist man aus dem Stadium der Berathungen in dieser Angelegenheit noch immer nicht hinausgekommen, obwohl dieselbe für den Norden der Republik von der allergrössten Bedeutung ist. Man neigt aber hier zu dem System der Italiener, obwohl dieses nirgends weniger zweckmässig ist, wie in den wenig controlirbaren Länderstrecken hier.

Es erscheint mir durchaus nicht ausgeschlossen, wenn diese Anschauungen eines Tages auf Grund meiner Vorschläge in die Praxis übersetzt werden sollten, dass man auch die Pferde vor Insectenstichen behüten will. Aber wer will die Pferde dagegen schützen, etwa durch Mosquitonetze u. s. w. Wie die Schutzmaassnahmen, die die Italiener gegen Malaria empfehlen, gegen diese Krankheit als Volkskrankheit undurchführbar sind, so wird dasselbe auch beim Mal de Caderas stattfinden.

Ganz anders das System von Koch, welches dem Uebel von Grund aus zu Leibe geht. Koch bekämpft die Ursache der Krankheit, das Plasmodium, und sucht es zu beseitigen und thut damit im Grunde nichts Anderes, als was ihm bei allen anderen Infectionskrankheiten die bedeutenden Erfolge gesichert hat.

Wenn ich im Laboratorium mit Reinculturen arbeite und dieselben weiter züchten will, so benutze ich dazu die Platinöse. Nimmt man mir dieselbe fort, so kann ich momentan keine Uebertragungsversuche machen, ich muss mir erst eine neue Oese machen. Nimmt man mir aber meine Reinculturen fort und durchstöbert alle Ecken und Winkel, in denen solche sein könnten und nimmt mir jede nur denkbare Gelegenheit, eine neue Reincultur zu erlangen, so bin ich meine Culturen losgeworden und kann sie nicht mehr weiterzüchten, trotz der besten Oesen.

Dies Beispiel pflege ich immer anzuführen, wenn ich die Koch'sche Malariatheorie auseinandersetzen soll. Die Oese ist bei der Malaria der Mosquito, ich vernichte Tausende und sofort kommen neue Hunderttausende.

Das Reagensglas, der Träger der Reincultur, ist der Mensch, der Nährboden (Agar, Bouillon u. s. w.) das Blut. R. Koch thut in das Reagensglas — den Menschen —, ein Desinfectionsmittel, das Chinin — und die Cultur ist abgetödtet. Desinficire ich nun alle Menschen, welche mit dem Virus der Malaria geimpft sind, so sind alle Reinculturen vernichtet und soviel Material (Blut) die Oese (der Mosquito) aus den Reagensgläsern (den Menschen) auch entnehmen mag, nirgends gelingt die Uebertragung mehr. Ist denn noch etwas Einfacheres und dabei zugleich Wirkungsvolleres denkbar? Und ist es nicht geradezu eine Schmach und Schande, wenn heute noch civilisirte Staaten ihre Hände in den Schooss legen, höchstens sich zu einigen Projecten aufschwingen und ihre Unterthanen nach wie vor sterben lassen?

Wenn man auch mit verschränkten Armen zusehen muss, wie die grossen Forschungen unseres Altmeisters unberücksichtigt gelassen werden, so hat uns Koch doch selbst gezeigt, wie man etwas leisten kann, wenn man diese Sache mit Energie und Consequenz durchführt, aber dazu gehören Initiative und Geduld, Dinge, die leider gar zu oft fehlen.

Sollen nun die Erfolge Koch's beim Mal de Caderas nicht anwendbar sein?

Gewiss sind dieselben so grossartig, dass eine Prüfung dieser Frage mehr als geboten ist.

Wir wissen, dass das Blut der Mal de Caderas-Pferde den Infectionsstoff beherbergt. Wir wissen ferner, dass die Infection nur durch Stiche blutsaugender Thiere übermittelt wird. Wir wissen ferner, dass die In-

fectionen nur dann stattfinden, wenn wir Zeiten des Regens und der Ueberschwemmungen haben. Wir wissen endlich, dass der Infectionsstoff sich 2 bis 5 Monate in Pferden und bis zu einem Jahre in Eseln und Mauleseln infectionstüchtig hält und nahezu in jedem Moment nachweisbar ist.

Bei der Malaria liegen nun die Verhältnisse so, dass wir im Menschen den eigentlichen Wirth, im Mosquito aber den Zwischenwirth zu suchen haben. Im Menschen hält sich der Infectionsstoff Jahre lang, im Mosquito immer nur kürzere Zeit. Offenbar liegen beim Mal de Caderas die Verhältnisse ganz ähnlich. Wir kennen zwar den Zwischenwirth noch nicht, aber doch müssen wir annehmen, dass es sich nur um diesen handelt bei dem blutsaugenden Insect, und dass das Pferd der eigentliche Wirth ist. Ich schliesse das aus dem Umstande, dass man beim Pferd, besonders aber bei dem Esel und Maulesel, das ganze Jahr hindurch kranke Thiere findet. Es fehlt also zu keiner Jahreszeit an infectionstüchtigem Material, wenn die Seuche trotzdem periodisch auftritt, so hat das nur seinen Grund in dem periodischen Auftreten des Zwischenwirthes. Mit der Kenntniss dieses Zwischenwirthes wird das noch evidenter werden, aber für diesen Zweck bedürfen wir derselben eigentlich gar nicht. Dieses periodische Wirken des Zwischenwirthes ist aber die allergünstigste Vorbedingung für ein Gelingen der epidemiologischen Bekämpfung.

Wir stellen also zunächst fest: Es giebt bestimmte von den Regenperioden abhängige Zeiträume, in denen eine Uebertragung der Krankheit durch Zwischenwirthe nicht stattfindet. Das Virus existirt dann nur im eigentlichen Wirth

Es gelangen nun aber Trypanosomen mit dem bluthaltigen Urin in die Aussenwelt, in's Gras, Wasser u. s. w. Diese sind aber bedeutungslos, da sie schnell zu Grunde gehen, wenn überhaupt solche da waren, was sehr selten der Fall ist.

Die regenfreie Zeit hat also dieselbe Bedeutung für das Mal de Caderas, wie die Winterzeit für die Malaria, in beiden Zeiträumen halten sich die Erreger nur im Menschen bezw. im Pferde und Verwandten auf.

Welche Rolle die Carpinchos (s. oben) spielen, muss noch erst aufgeklärt werden, aber es ist zu betonen, dass dieselben nicht überall sind und dann könnte man sie ja auch leicht durch Vergiftung u. s. w. aus dem Wege räumen.

Die regenlose Zeit müssen wir also benutzen, um die Trypanosomen zu vernichten, da sie dann ihre geringste Ausbreitung haben.

Wir brauchen nur zweierlei, einmal ein Merkzeichen, um die Anwesenheit der Trypanosomen zu kennen, und dann ein Desinfectionsmittel, um sie zu vernichten. Das Letztere besitzen wir einstweilen aber nicht,

wenigstens nicht ein solches, das im Sinne des Chinins wirkte. Es bleibt uns nur eine einzige Möglichkeit, die Trypanosomen-Reincultur zu zerstören — d. i. die Tödtung des erkrankten Pferdes.

Das Mittel ist radical und sehr wohl durchführbar, denn einmal haben die Pferde — es handelt sich fast durchgehend um eingeborene Pferde — kaum einen Werth, dann aber ist jedes ein Mal erkrankte Pferd so wie so verloren, also wozu es noch unnütz füttern.

Haben wir sämmtliche kranken Pferde, Esel und Maulesel in der seuchenfreien Zeit getödtet, so giebt es, wenn mit Beginn der Regenzeit die blutsaugenden Zwischenwirthe kommen, keine Trypanosomen mehr und die Krankheit muss gerade so erlöschen, wie die Malaria auf Koch's Chininvergiftungen der Plasmodien erloschen ist. Das ist nicht nur möglich, sondern sogar absolut sicher. Es handelt sich nur darum, alle Thiere ausfindig zu machen, die Trypanosomen haben. Nach längerer Dauer der regenlosen Zeit werden die meisten — Pferde wenigstens — todt sein. Esel und Maulthiere werden allerdings noch leben, aber sie sind schon so heruntergekommen, dass es leicht ist, sie aufzufinden und unschädlich zu machen.

Wir wissen indess aus der Analogie mit anderen Krankheiten, dass es mit der Ausmerzung der grobsinnlich wahrnehmbaren Krankheitsfälle noch nicht gethan ist, und dass gerade die schleichenden, beginnenden, wenig prägnanten Fälle häufig genug zur Weiterverbreitung der Seuche beitragen.

Auch für die Malaria betont R. Koch genau dasselbe und verlangt systematische Blutuntersuchungen. Wir haben oben schon darauf hingewiesen, welche Schwierigkeiten die Frühdiagnose des Mal de Caderas macht. Der Laie beobachtet absolut nichts, für den Sachverständigen bieten sich besonders zwei wichtige Anhaltspunkte, die Temperatur und der Befund an Trypanosomen.

Die Temperatursteigerungen sind schon oben beschrieben, wenn sie auch ein Frühsymptom sind, so sind sie doch schwankend. Nichtsdestoweniger sind sie wichtig, nur muss man berücksichtigen, dass bei wilden und halbwilden Thieren durch das Einfangen an sich schon Temperatursteigerungen hervorgerufen werden. Jedenfalls muss die Temperatur zur Diagnostik herangezogen werden. Erfordert die richtige Beurtheilung dieser Verhältnisse schon fachmännische Kenntnisse, die man nur beim Thierarzt voraussetzen darf, so ist das um so nothwendiger beim Nachweis der Trypanosomen. Die Trypanosomen im Mikroskop analog den Malariaplasmodien nachweisen zu wollen, mag dann und wann gelingen, aber praktisch ist das undurchführbar. Mir erscheint es leichter und bedeutend sicherer, den Nachweis der Trypanosomen durch den Thierversuch zu

führen. Impfe ich eine Maus mit 1 bis 2 ccm Pferdeblut subcutan, so gelingt die Infection eigentlich stets, in nur sehr, sehr wenig Fällen haben wir bei unseren Versuchspferden negativen Erfolg gehabt. Nimmt man weisse Mäuse, so ist deren Schicksal in 10 Tagen entschieden, bei grauen dauert es etwas länger. So kann man ohne Mikroskop, nur mit einer Anzahl Mäuse und einer Spritze bewaffnet, überall arbeiten. Ein Bischen Blut aus der Vena jugularis zu entnehmen, gelingt schliesslich auch bei dem wildesten zu Boden geworfenen Pferde.

Die Resultate der Diagnostik lassen keinen Zweifel an dem eventuellen Vorhandensein der Krankheit aufkommen.

Geht man dann so radikal vor, wie eben ausgeführt ist, so wird man auch alle Trypanosomenherde ausrotten können und zwar bevor noch die neue Epidemie ausbricht. Wenn dann beim Einsetzen der Regenzeit die Zwischenwirthe auftreten, so haben sie keine Gelegenheit mehr, Trypanosomen zu finden und muss die Seuche erlöschen.

Leider fehlt es in den Ländern, wo das Mal de Caderas herrscht, noch sehr an Personal, welches genügend wäre, um diese Maassnahmen mit Erfolg durchzuführen, vor der Hand erscheint daher wenig Aussicht, dass die Seuche erfolgreich bekämpft werden könnte.

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. V.)

Fig. 1. Junges ausgereiftes Trypanosoma equina.

Fig. 2. Degenerationsformen. *a*) Kugelförmiges Protoplasma, aber noch mit Schnabel und Geissel. *b*) Kugelform mit verschwundenem Schnabel, aber noch vorhandener Geissel. *c*) Unregelmässig gestalteter Protoplasmahaufen nach Verlust von Schnabel und Geissel.

Fig. 3. Jugendform der Trypanosomen. *a*) Einfacher Kern. *b*) Getheilter Kern.

Fig. 4. Ausgewachsenes Trypanosoma mit mehrfachem Kern.

Fig. 5. *a*) Trypanosoma mit Längstheilung. *b*) Trypanosoma mit Quertheilung. *c*) Theilung des Trypanosoma in mehrfache Theile, Urform noch angedeutet.

Fig. 6. Urform nicht mehr erkennbar.

Fig. 7. Zwei junge noch nicht völlig getrennte Trypanosomen, bei × mit den Schnabelfortsätzen noch zusammenhängend.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Breslau.]

Ueber ein Verfahren zum Nachweis von Pferdefleisch.

Von

Oberarzt Dr. **Nötel,**
commandirt als Assistent an das hygienische Institut zu Breslau.

Die Entdeckung der Präcipitine durch Bordet und Tsistowitsch haben zuerst Wassermann und Schütze[1] in ihrer praktischen Tragweite richtig erkannt, bedeutend erweitert und unabhängig von Uhlenhuth u. A. zu einer exacten Methode des Nachweises von Menschenblut auch in geringen Spuren verwerthet. Die strenge Specifität dieser Reaction legte den Gedanken nahe, die gleiche Methode auch auf die Erkennung der verschiedenen Fleischsorten auszudehnen, besonders minderwerthiger, die namentlich als Beimengungen zu Hackfleisch oder Würsten keine charakteristischen Unterscheidungsmerkmale bieten und somit willkommenes Fälschungsmaterial abgeben.

Für unsere Gegenden kommt bekanntermaassen hauptsächlich das Pferdefleisch in Betracht, welches seiner Minderwerthigkeit wegen in ausgedehntester Weise zu Fälschungen verwendet wird. Die Unterschiebung ist bis jetzt nur ausnahmsweise zu erkennen; die anatomischen Unterscheidungsmerkmale gegenüber anderen Fleischsorten sind nicht durchweg stichhaltig und können nur bei der Beurtheilung grösserer, womöglich mit Knochen versehener Stücke verwerthet werden; ebenso unzulänglich sind aber auch die complicirten chemischen Methoden, die den Nachweis bestimmter, für das Pferdefleisch specifischer bezw. gegenüber anderen Fleischsorten in abweichender Menge vorhandener Bestandtheile, wie Glycogen, freie Fettsäuren u. s. w. bezwecken.

Eine einfache, auf dem Eingangs erwähnten Princip beruhende Methode zur Erkennung von Pferdefleisch ist daher zweifellos für die praktische Fleischcontrole von nicht zu unterschätzender Bedeutung.

Vorweg möchte ich bemerken, dass ich mit meinen hierauf bezüglichen Versuchen bereits systematisch begonnen hatte, ehe mir der vom Kreis-

[1] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1901. Nr. 7.

thierarzt Jess auf der diesjährigen Naturforscherversammlung gemachte Vorschlag, die Eingangs erwähnte Blutreaction auch auf die Erkennung von Pferdefleisch auszudehnen, bekannt war. Vor Abschluss meiner Versuche erschien ferner eine Mittheilung von Uhlenhuth[1] über die praktische Anwendung seiner Blutreaction für die Fleischbeschau. Dieselbe beschränkt sich im wesentlichen auf die Feststellung der Thatsache, dass es mit Hülfe der specifischen Sera gelingt, auch in Fleischauszügen der entsprechenden Thierart eine Trübung hervorzurufen; die von Uhlenhuth kurz angedeutete Methode wird sich aber für die Praxis wenig eignen, da sie eines umständlichen Filtrationsapparates bedarf und manche für die Praxis durchaus erforderliche Cautelen unberücksichtigt lässt. Ich habe daher meine Versuche trotz beider Publicationen zu Ende geführt, weil durch diese ein practisch anwendbares, einwandfreies Verfahren zur Erkennung von Pferdefleisch entschieden noch nicht bekannt geworden war.

Was zunächst die Vorbehandlung meiner Thiere angeht, so habe ich drei Gruppen Kaninchen in folgender Weise vorbehandelt: die ersten erhielten Injectionen von Pferdeserum, die zweiten von Presssaft, gewonnen durch sofortiges Auspressen von Fleischstücken durch nasse Colirtücher in einer Pressmaschine. Zur Behandlung der dritten Gruppe übergoss ich zerkleinertes Pferdefleisch mit 0·1 procentiger Sodalösung, liess den Aufguss längere Zeit in der Wärme stehen und presste dann ebenfalls durch Colirtücher. Das Pferdeserum wurde steril gewonnen, die Presssäfte habe ich gleich nach der Gewinnung unfiltrirt injicirt, ohne dass sich dadurch irgend welche erheblichere örtliche oder gar Allgemeininfection entwickelt hätten. Die Methode der Herstellung eines keimfreien Filtrats durch Berkefeldfilter habe ich, abgesehen von ihrer Umständlichkeit, hauptsächlich deshalb nicht in Anwendung gezogen, weil es von vornherein unsicher war, ob nicht wirksame Eiweissstoffe dabei im Filter zurückgehalten würden.

Von den hergestellten Flüssigkeiten erhielten grosse Kaninchen mit einem Anfangsgewicht nicht unter 2000 ^{grm} in 2 bis 3tägigen Intervallen 10 ^{ccm} unter die Rückenhaut eingespritzt. Dies ist die bequemste Art der Einverleibung und wird von den Thieren viel besser vertragen als die intraperitoneale Injection, die völlige Keimfreiheit des Injectionsmaterials voraussetzt. Erforderlich ist, dass man mehrere Thiere gleichzeitig in Behandlung nimmt, da die Injectionen nicht gleichmässig gut vertragen werden; bisweilen magern ganz kräftige Thiere nach einigen Injectionen rapide ab. Den besten Maassstab für das Wohlbefinden der Thiere giebt selbstverständlich die Gewichtscontrole.

[1] *Deutsche med. Wochenschrift.* 7. Novbr. 1901.

Da durchaus ein hochwerthiges Serum hergestellt werden muss, empfiehlt es sich, mindestens 10 bis 12 Injectionen zu machen. Nach der letzten Injection wartet man 6 Tage und entblutet dann die Thiere, meines Erachtens am zweckmässigsten durch Eröffnung der Carotis, zumal man bei diesem Verfahren sicher ein steriles Serum erhalten kann. Weniger als 5 bis 6 Tage nach der letzten Injection verstreichen zu lassen, ist nach meinen Erfahrungen sehr zu widerrathen, da das vorzeitig gewonnene Serum trotz langdauernder Vorbehandlung des Thieres oft nur geringe Wirkungen zeigt. Das Serum setzt sich in Reagensröhrchen nach etwa 48 Stunden so gut ab, dass man es bei Filtration durch extrastarkes Filtrirpapier meistentheils ganz klar erhält; zuweilen ist jedoch die Filtration durch ein Berkefeldfilter nicht zu umgehen.

Als mit den gewonnenen Serumarten die ausschlaggebenden Versuche in der unten beschriebenen Weise angestellt wurden, zeigte sich, wie ich von vornherein angenommen hatte, dass das Serum der mit Presssaft und der mit Sodaextract vorbehandelten Thiere eine nicht unbeträchtlich stärkere und eindeutigere Reaction ergab, als das Serum der mit Pferdeserum vorbehandelten Kaninchen, selbst wenn letztere mehr Injectionen erhalten hatten.

Diese Erscheinung hat zweifellos darin ihren Grund, dass auch die löslichen Eiweisskörper des Muskels ähnlich wie die des Blutes, eine specifische Reaction hervorrufen, so dass man nicht lediglich auf die im ausgeschlachteten Fleisch unter Umständen spärlich vorhandenen Eiweisskörper des Blutes angewiesen ist.

Bei der Anstellung der Versuche lag die Hauptschwierigkeit darin, eine klare, dabei aber stark concentrirte, möglichst viel reactionsfähige Eiweisskörper enthaltende Lösung des Untersuchungsmaterials zu gewinnen und zwar womöglich in so einfacher Weise, dass das Verfahren auch ohne Laboratoriumsapparate in der Praxis anwendbar war.

Ich nahm aus letzterem Grunde von vornherein von der von Uhlenhuth angegebenen Methode, den trüben Saft des Untersuchungsmaterials durch Filtration mittels Berkenfeldfilter zu klären, Abstand und versuchte, den Saft durch ein Papierfilter, auf das eine Schicht Caolin-Pulver aufgetragen war, klar zu erhalten. Dies gelang zwar, doch zeigte sich bei Controlversuchen, dass die Reaction einer so behandelten Portion erheblich schwächer ausfällt, als die einer nicht filtrirten, dass also das Caolin viele wirksame Eiweisskörper durch Flächenattraction zurückhält. Mit einer vermuthlich noch stärkeren Schädigung muss man bei der Filtration durch Berkefeldfilter rechnen. Erheblich geringer wird dagegen die Einbusse, wenn man gereinigten Glasstaub von $^1/_4$ mm Korngrösse ziemlich reichlich auf ein feuchtes Filter aufschüttet, dann mit der Untersuchungs-

flüssigkeit anfeuchtet und diese dann durchfiltrirt. Man ist aber öfters genöthigt, das Filtrat mit Sodalösung noch zu verdünnen, um dasselbe so klar zu erhalten, dass bei der Anstellung der Reaction Zweideutigkeiten ausgeschlossen sind.

Alle diese Schwierigkeiten lassen sich nach meinen bisherigen Erfahrungen umgehen, wenn man das Untersuchungsmaterial, mag es sich um zerkleinerte Fleischstücke, Hackfleisch oder Wurstwaaren handeln, mit 0·1 procentiger Sodalösung oder auch Leitungswasser nur übergiesst und einige Stunden in der Wärme stehen lässt, ohne das Fleisch zu rühren oder zu pressen. Man erhält alsdann eine Flüssigkeit, die genügende Mengen reactionsfähiger Eiweisskörper enthält und höchstens durch ein doppeltes Filter von starkem Filtrirpapier filtrirt werden muss, um eine vollständig klare Lösung zu liefern.

In den so gewonnenen Filtraten aus gehacktem Fleisch tritt nach unsern Erfahrungen eine manifeste Trübung nach Serumzusatz des mit Presssaft oder Sodaextract vorbehandelten Kaninchens noch ein, wenn die Beimengung von Pferdefleisch nur $^1/_{10}$ des Gesammtgewichts beträgt, ein Verhältniss, das praktisch kaum mehr in Frage kommt, da so geringe oder geringere Beimengungen die Fälschung nicht lohnen.

Beim halbgar gebratenen Fleisch, sogenanntem englischen Beefsteak, lässt sich die Verwendung von Pferdefleisch noch unzweifelhaft nachweisen, wenn man aus etwa 50^{grm} in der unten beschriebenen Weise sich einen Auszug herstellt und denselben mit Serum versetzt.

Besondere Einschränkungen, sowie Vorsichtsmaassregeln erfordert die Anstellung der Reaction mit Räucherwaaren, besonders **Wurst**. Von vornherein ist der Nachweis von Pferdefleisch selbstverständlich ausgeschlossen bei Producten, die gekocht oder heiss geräuchert sind und bei denen die Reactionsfähigkeit der Eiweisskörper dadurch erloschen ist. Vielfach werden aber die Waaren nur durch kalte Räucherung conservirt und da bei dieser die Eiweisskörper keine tiefergehenden Aenderungen erleiden, sollte man a priori annehmen, dass sie den Nachweis von Pferdefleisch durch specifisches Serum ebenso gestatten, wie frisches Hackfleisch.

Es gelingt auch ganz gut, aus Wurst Auszüge herzustellen und zu filtriren und auf diese Weise reactionsfähiges Material zu gewinnen. Wenn man aber mit solchen Wurstauszügen die Reaction anstellt und zur Controle auch Röhrchen in den Brütschrank bringt, die nur den klaren Wurstextract *ohne* Serumzusatz enthalten, so zeigt sich überraschender Weise, dass nach etwa 10 Minuten bis einer Viertelstunde Aufenthalt im Brütschrank *auch in einigen der Controlröhrchen eine bis zur Trübung sich steigernde Opalescenz auftritt. Die gleiche Trübung zeigt sich in den mit Serum versetzten Röhrchen*

und täuscht hier eine positive Reaction auf Pferdefleisch vor. Zusätze von Antisepticis, Alkalisirung der stets sauren Untersuchungsflüssigkeit durch Sodalösung brachten die Trübung nicht zum Schwinden, dieselbe trat auch wieder ein, wenn man den Niederschlag, der sich schliesslich bildete, abfiltrirte und das klare Filtrat wiederum längerer Erwärmung aussetzte. — Vermuthlich handelt es sich hier um eine durch langsame und begrenzte Fäulnissprocesse hergestellte Modification der Eiweisskörper, welche bei Gegenwart von Kochsalz schon bei so relativ niederer Temperatur — 37° — nicht mehr in Lösung gehalten wird.

Um diese wichtige Fehlerquelle bei der praktischen Anwendung des Verfahrens ausschalten zu können, habe ich versucht, auf eine grosse Reihe Proben gleichmässig hergestellter Wurstauszüge eine bestimmte Temperatur während verschiedener Zeitdauer einwirken zu lassen, und dabei festszutellen, bei welcher Temperatur und Zeitdauer der Eintritt der spontanen Eiweisstrübung sicher unterbleibt, während die Trübung durch specifisches Serum bei der Anwesenheit von Pferdefleisch schon vollkommen deutlich ist.

Als beste Versuchsbedingungen fand ich den Aufenthalt der Proben während höchstens 5 Minuten in Wasser von 40°. Das Einstellen in Wasser ist durchaus erforderlich; beim Aufenthalt im Brütofen tritt die Erwärmung viel zu langsam und ungleichmässig ein. Höhere Temperatur des Wassers, sowie längeres Verweilen können schon Opalescenz mit nachfolgenden Trübungen hervorrufen, welche die Sicherheit der Entscheidung beeinträchtigen.

Schliesslich möchte ich noch darauf hinweisen, dass Eselfleisch ähnliche Trübungen bewirkt, aber praktisch in unseren Gegenden nicht in Betracht kommt.

Die Vorschriften für die Ausführung der beschriebenen Proben auf Pferdefleisch lassen sich in folgender Weise zusammenfassen:

1. Vorbehandlung der Kaninchen:

Entweder:

Grob zerkleinerte Fleischstücke werden in einer grossen Doppelschale oder auch einem Suppenteller ausgebreitet mit soviel 0·1 procentiger Sodalösung übergossen, dass sie gerade bedeckt sind. Man lässt das Gemisch 3 Stunden bei 37° stehen, giesst die dunkelrothe Flüssigkeit ab, presst die Fleischstücke kräftig durch ein starkes, vorher mit Sodalösung durchfeuchtetes Colirtuch und mischt den Presssaft mit der vorher abgegossenen Flüssigkeit. Oder:

Man zerkleinert das Fleisch, bringt dasselbe auf ein gut durchleuchtetes Colirtuch und presst sofort. Von den gewonnenen Flüssigkeits-

mengen werden Kaninchen von mindestens 2000 ^{grm} Anfangsgewicht in 2- bis 3 tägigen Intervallen je nach dem Gewichtszustande im Ganzen 10 bis 12 Injectionen zu 8 bis 10 ^{ccm} gemacht und die Kaninchen 6 Tage, nicht früher, nach der letzten Injection entblutet. Das Serum wird durch Absitzen, eventuell durch Filtration geklärt.

2. Nachweis von Pferdefleisch in ungeräucherten Waaren.

Wenn es sich um ganze Fleischstücke handelt, so werden dieselben nach Möglichkeit zerkleinert, mit soviel 0·1 procentiger Sodalösung oder auch Leitungswasser übergossen, dass die aufgegossene Flüssigkeitsmenge etwa $^2/_3$ des Gewichts der Fleischmenge beträgt. Soll die Reaktion mit Hackfleisch angestellt werden, so breitet man dasselbe in möglichst dünner Schicht auf dem Boden eines Tellers aus und übergiesst mit Sodalösung oder Wasser wie eben beschrieben. Man lässt die Gefässe bedeckt etwa 2 Stunden im warmen Zimmer stehen. Die Flüssigkeit wird alsdann vorsichtig abgegossen und nöthigenfalls durch starkes Filtrirpapier filtrirt.

Von dem Filtrat bringt man etwa 3 Tropfen in kleine Reagensgläschen von 8 ^{mm} Durchmesser und fügt 3 bis 4 Tropfen Serum von vorbehandelten Kaninchen hinzu. Zur Controle darf man nie versäumen, eine zweite Serie Proben ohne Serumzusatz beizufügen; ausserdem ist die specifische Wirksamkeit des Serums gegenüber Pferde- und Rindfleischextract zu controliren. Dann stellt man die Röhrchen in einen Brütschrank oder in ein Wasserbad und hält sie bei 37°. Je nach der Wirksamkeit des Serums zeigt sich im Brütschrank nach 10 bis 40 Min. (bei hochwerthigem Serum stets nach 10 Min.), im Wasserbad nach 5 Min. Trübung in den von Pferdefleisch stammenden Proben.

3. Nachweis von Pferdefleisch in kalt geräucherten Wurstwaaren.

Man stellt den Auszug in derselben Weise wie beim frischen Fleisch her, filtrirt nöthigenfalls mehrfach durch mehrere Lagen starkes Filtrirpapier, bis keine Spur von Opalescenz mehr besteht. Von den mit diesem Extract gefüllten Röhrchen lässt man einige ohne jeden Zusatz, während man eins oder zwei mit dem Serum versetzt. Sämmtliche Röhrchen stellt man gleichzeitig in ein Wasserbad, welches auf 40° C. temperirt ist und belässt dieselben 5 Minuten — nicht länger — in demselben. Tritt innerhalb dieser Zeit in den mit Serum versetzten Röhrchen eine Trübung ein, während die unversetzten Controlröhrchen klar bleiben, so ist der Nachweis von Pferdefleisch erbracht.

[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten in Berlin.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. R. Koch.)

Ueber das Hünermann'sche Verfahren der Wasserdesinfection nebst Bemerkungen über die bei der Prüfung derartiger Desinfectionsmittel anzuwendenden Untersuchungsmethoden.

Von

Stabsarzt Dr. **Schüder.**

Das Bestreben, ein als möglicher Weise gesundheitsschädlich anzusehendes Wasser durch Zusatz chemischer Mittel für den Genuss brauchbar zu machen, ist schon sehr alt. So erwähnt Kaufmann[1], dass die ägyptischen Fellachen das Wasser des Nils schon seit Jahrhunderten trinkbar machen durch Filtration und Sedimentirung, die, abgesehen von der in neuerer Zeit gebrauchten Alaunlösung durch zerstossene Pfirsichkerne bewirkt wurde. — Der Zusatz chemischer Mittel soll entweder in dem zu reinigenden Wasser einen Niederschlag hervorrufen, welcher die organischen Fremdkörper und Bakterien mit niederreisst, oder die im Wasser enthaltenen Keime direct vernichten.

Die Zahl der im Laufe der Zeit zu diesen Zwecken angegebenen Mittel ist eine ausserordentlich grosse. Schumburg[2] hat von einer Reihe von Jahren im Auftrage der Medicinalabtheilung des Königl. Preuss. Kriegsministeriums allein über 20 derartiger, für die Wasserdesinfection angegebener Mittel geprüft mit fast ausschliesslich ungünstigem Ergebniss. Einzelne Mittel liessen gar keine, einzelne nur geringe Wirkung erkennen, andere brauchten sehr

[1] 68. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Frankfurt a/M., 21. bis 26. September 1896. (Citirt nach Schumburg.)

[2] *Veröffentlichungen auf dem Gebiete des Militär-Sanitätswesens.* Hft. 15. S. 34 ff.

lange Zeit zur Entfaltung ihrer Wirksamkeit, so z. B. das von Kröhnke[1] angegebene Kupferchlorür und das namentlich von Altehöfer[2] empfohlene Wasserstoffsuperoxyd, welche 24 Stunden einwirken müssen; noch andere machten durch die grossen benöthigten Mengen das Wasser zum Genuss unbrauchbar, wie z. B. der Kalk, der nach Liborius[3] in einer Menge von 246 mg pro Liter und nach Pfuhl[4] in einer Concentration von 10procentigem Kalkhydrat dem Wasser zugesetzt werden muss. —

Nun muss man aber von einem für die Trinkwasserdesinfection praktisch brauchbaren Mittel verlangen, dass es nicht nur sicher keimvernichtend, sondern auch möglichst schnell wirkt, leicht zu handhaben, nicht zu kostspielig ist, auch in grösseren Mengen mit dem Wasser genossen, nicht die Gesundheit schädigt, sowie das Wasser in Bezug auf Aussehen, Geruch und Geschmack nicht allzu sehr verändert.

Je mehr diesen Gesichtspunkten Rechnung getragen wurde — und das ist eigentlich bei allen neueren Untersuchungen der Fall gewesen — desto mehr verengte sich der Kreis der überhaupt für praktische Zwecke in Betracht kommenden Mittel für die chemische Desinfection des Trinkwassers und man kann behaupten, dass neuerdings eigentlich nur noch das Chlor und das Brom in Betracht kamen und in den Bereich der Untersuchungen gezogen sind.

Was zunächst das Chlor anlangt, so hat schon R. Koch in seiner grossen, in den Mittheilungen aus dem Reichsgesundheitsamt enthaltenen Desinfectionsarbeit[5] auf die grosse baktericide Kraft der Chlorverbindungen hingewiesen und in einer Reihe von Arbeiten von Behring[6], Sternberg[7], Jäger[8], Liborius[9], Kitasato[10], v. Esmarch[11], Pfuhl[12], Nissen[13] sind diese Angaben bestätigt und erweitert. Im Jahre 1893 lenkte M. Traube[14]

---

[1] *Journal für Gasbeleuchtung und Wasserversorgung.* 10. Septbr. 1893.

[2] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. VIII. S. 129.

[3] *Diese Zeitschrift.* Bd. II. S. 15 ff.

[4] *Ebenda.* Bd. XII. S. 509.

[5] *Mittheilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* Bd. I. S. 199 ff.

[6] Ueber Desinfection, Desinfectionsmittel u. Desinfectionsmethoden. Behring's *Gesammelte Abhandlungen.* 1893. S. 311.

[7] Preliminary Report mate by the Committee of Desinfectants of the American Public Health Association. — Ref. Uffelmann's *Deutsche Vierteljahresschrift für öffentl. Gesundheitspflege.* 1886. Bd. XVIII. Suppl. S. 155.

[8] *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* Bd. V. S. 247 ff.

[9] *Diese Zeitschrift.* Bd. II. S. 15 ff.

[10] *Ebenda.* Bd. III. S. 404 ff.

[11] *Ebenda.* Bd. V. S. 67 ff.

[12] *Ebenda.* Bd. VI. S. 97 ff.

[13] *Ebenda.* Bd. VIII. S. 62 ff.

[14] *Ebenda.* Bd. XVI. S. 149 ff.

zuerst die Aufmerksamkeit auf die Verwendung des Chlorkalks als Trinkwasserreinigungsmittel. Traube nahm sehr geringe Mengen (4·26 mg) Chlorkalk, enthaltend 1.065 mg wirksames Chlor auf den Liter und innerhalb von 2 Stunden, oder auch schon in kürzerer Zeit, sollten alle Mikroorganismen abgetödtet sein. Zur Entfernung des überschüssigen Chlorkalks genügte ein Zusatz von 2·09 mg Natriumsulfit. Traube arbeitete allerdings nicht mit pathogenen Keimen, sondern mit Bakterien aus faulender Fleischflüssigkeit. 1894 bestätigte Karlinski[1], dass 1 mg freies Chlor pro Liter Wasser zur Abtödtung aller Wasserbakterien, Cholera- und Typhusbacillen genügt, und dass bei der Combination des Chlors mit einem chemischen Filterverfahren grobe Verunreinigungen enthaltende und inficirte Wässer so gereinigt werden könnten, dass sie die strengsten Anforderungen an Gefahrlosigkeit und Appetitlichkeit erfüllten. Des Weiteren bestätigte Kratschmer[2] 1894 durch seine Versuche, dass 3 mg Chlor auf 1 Liter Wasser sogar Milzbrandsporen abtödtete.

Lode[3] und auch Bassenge[4] haben 1895 das Traube'sche Verfahren geprüft und weiter auszubilden versucht. Lode zog auch Bacterium coli, Typhus, Cholera, Milzbrand, sowie künstlich und natürlich verunreinigtes Wasser in den Bereich seiner Versuche und fand, dass die von Traube angewandte Menge von 1 mg freien Chlors auf 1 Liter Wasser in kürzerer Zeit unzulänglich wirkt und ebenso auch noch nach 24 Stunden. Er erhöhte die Traube'sche Chlormenge um das 30fache, also auf 30 mg pro Liter und kürzte dafür die Einwirkungsdauer bis auf 10 Minuten ab, was einen grossen praktischen Gewinn bedeutete. Zur Bindung des unverbrauchten Chlors diente Calcium- oder Natriumsulfit. Lode wies gleichzeitig auf die mit der Zeit auftretende Werthverminderung des Chlorkalks und seine schwere Benetzbarkeit hin. Letzteren Uebelstand suchte er durch feines Verreiben in Wasser auf mechanischem Wege, wie auch durch Zersetzung des Chlorkalks mittels 0·25 grm Citronensäure pro Liter auf chemischem Wege abzuhelfen. Lode erhielt allerdings kein klares Wasser, sondern ein durch Flocken von kohlensaurem Kalk getrübtes und glaubt aus diesem Grunde eine nachträgliche Filtration in Aussicht zu nehmen, bezw. einen Zusatz von Salzsäure machen zu müssen. Bassenge gelangte ebenfalls zu einer günstigen Beurtheilung des Traube'schen Princips.

---

[1] Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Wien am 26. September 1894. *Wiener klin. Wochenschrift.* 1894. S. 915. Congressbericht.

[2] Nach Schumburg: *Veröffentlichungen aus dem Gebiete des Militär-Sanitätswesens.* Hft. 18. S. 79.

[3] *Archiv für Hygiene.* Bd. XXIV. S. 236 ff.

[4] *Diese Zeitschrift.* Bd. XX. S. 227 ff.

Nach seinen Versuchen genügte ein Zusatz von 0·0978 grm activen Chlors, entsprechend 0·15 grm käuflichen Chlorkalks auf 1 Liter Wasser, um binnen 10 Min. sehr stark mit pathogenen Keimen verunreinigtes Wasser sicher keimfrei zu machen. Bei längerer Einwirkungsdauer, z. B. 2 Stunden, vermindert sich die nöthige Chlormenge auf 0·0108 grm. Das nicht verbrauchte Chlor macht Bassenge durch Calciumbisulfit (3 ccm einer gesättigten Lösung = 0·02 grm freien Chlors) unschädlich, wodurch eine geringe Menge schwefelsauren Kalks als Niederschlag ausgefällt wird. Bassenge erachtet sein Verfahren als vollkommen sicher, um auf chemischem Wege sicher keimfreies Wasser herzustellen. Schumburg[1] hat 1897 auf Grund seiner Versuche das von Traube ersonnene und besonders von Bassenge ausgebildete Verfahren in seiner Wirkung als richtig und zuverlässig anerkannt und auch Löffler[2] sagt in dem Weyl'schen Handbuch für Hygiene, dass sich das Traube'sche Princip als überaus werthvoll für die Praxis erwiesen habe. Ballner[3] bestätigt in einer Arbeit aus diesem Jahre, dass das Chlorkalkverfahren als genügend zuverlässig anzusehen sei.

Für das Brom hat 1894 Kratschmer[4] eine dem Chlor ähnliche keimvernichtende Wirkung nachgewiesen, dann ist es 1896 gleichzeitig von Jaworowski[5] und Schumburg[6] zur Wasserdesinfection angewandt. Jaworowski setzte dem zu reinigenden Wasser soviel gesättigtes Bromwasser zu, dass es nach $^1/_2$ Stunde noch Bromgeruch aufweist. Das Brom wird dann mit basischem Wismuthsulfit und Wismuthoxydul beseitigt. Das Verfahren ist nach Schumburg[7] gänzlich unbrauchbar, weil sich bei der Nachprüfung die entstandene braune, schlammige Trübung nach 24 Stunden noch nicht abgesetzt hatte. Schumburg war auf das Brom verfallen, einmal der dem Verfahren mit Chlorkalk selbst, sowie des Weiteren der Entfernung des überschüssigen Chlors anhaftenden Schwierigkeiten halber, andererseits weil Brom bei gewöhnlichem Druck bereits eine Flüssigkeit ist. Schumburg bildete sein Verfahren dahin aus, dass nach seinen Angaben[8] mit 0·06 grm freien Broms auf 1 Liter Wasser in 5 Minuten fast sämmtliche Wasserbakterien und sämmtliche bisher im Wasser nachgewiesenen pathogenen Keime sicher abgetödtet werden

[1] *Veröffentlichungen aus dem Gebiete des Militär-Sanitätswesens.* Hft. 15. S. 83.

[2] Jena 1896. S. 709.

[3] *Wiener med. Wochenschrift.* 1901. Nr. 31, 33.

[4] *Wiener klin. Wochenschrift.* 1894. S. 915.

[5] Ref. *Pharmaceutische Centralhalle.* Bd. XXXVII. Nr. 51.

[6] *Veröffentlichungen aus dem Gebiete des Militär-Sanitätswesens.* Hft. 15. S. 86.

[7] *Ebenda.* S. 85.

[8] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1897. Nr. 10 u. 25. — *Deutsche militärärztl. Zeitschrift.* 1897. S. 289 ff.

können. Das Brom wird von ihm in Form einer Brom-Bromkalilösung angewandt, von der 0·2 ccm 0·06 grm freies Brom enthalten. Das überschüssige Brom wird mit Natrium sulfurosum und Natrium carbonicum siccum (0·095 + 0·94) unschädlich gemacht. Ueber den Werth des Schumburg'schen Verfahrens äusserte sich zunächst 1900 A. Pfuhl[1] auf Grund seiner umfangreichen Nachprüfungen in sehr lobender Weise und stellt dasselbe unter den analogen Verfahren an die erste Stelle. Desgleichen äussert sich Ballner[2] 1901 dahin, dass das Bromverfahren in seiner sterilisirenden Wirkung als genügend zuverlässig anzusehen sei.

Schon ehe die Nachtheile in der Anwendung des Chlorkalks zur Wasserdesinfection Schumburg auf die Anwendung des Broms gebracht hatten, waren es 1894 Sickenberger und Kaufmann[3] gewesen, welche an Stelle des Chlorkalks das unterchlorigsaure Natrium setzten und mit demselben Nilwasser sterilisirten. Sie wollen bei Zusatz von 5 mg reinen Chlors auf 1 Liter Wasser Vernichtung sämmtlicher Keime erzielt haben. Im Sommer d. J. haben nun Hünermann und Deiter[4] ein Verfahren der Trinkwasserdesinfection mit Natriumhypochlorit erprobt und für durchaus brauchbar befunden, zugleich auch eine Lösung von Natriumhypochlorit mit einfachen Mitteln hergestellt, welche einen constanten Chlorgehalt ziemlich lange behält, wodurch das Verfahren an Billigkeit und Bequemlichkeit der Handhabung sehr gewinnt. Hünermann setzt von seiner NaOCl-Lösung soviel zum Wasser, dass auf den Liter 0·04 grm wirksames Chlor kommen, d. h. also 0·4 ccm einer 10 procent. Lösung. Eine Einwirkungsdauer von 10 Minuten soll genügen, um alle im Wasser enthaltenen Typhus- und Colibacillen sowie Choleravibrionen mit Sicherheit abzutödten. Der Härtegrad und der Gehalt an organischer Substanz sollen die Desinfection nicht erheblich beeinträchtige. Die Bindung des Chlors erfolgt nach vollendeter Desinfection mittels einer Lösung von Natriumsulfat (Na_2SO_3), von welchem 0·14 grm für 0·04 grm Chlor genügen. Eine Gesundheitsschädigung durch die angewandten Chemicalien soll nicht zu befürchten sein.

Nach dem Vorstehenden könnte es scheinen, als ob wir in dem Chlor in der Form des Chlorkalks oder unterchlorigsauren Natriums, bezw. im Brom in der Schumburg'schen Brom-Bromkalilösung geeignete Mittel zur Desinfection des Trinkwassers

[1] *Diese Zeitschrift.* 1900. Bd. XXXIII. S. 53 ff.

[2] *Wiener med. Wochenschrift.* 1901. Nr. 31—33.

[3] *Le Progrès.* Journal Quotidien paraissant au Caire. 13. December 1894. (Citirt nach Bassenge.)

[4] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1901. Nr. 24. S. 391 u. 392.

besässen, welche allen an dieselben zu stellenden Anforderungen genügten. So segensreich dies auch sein würde in Wirklichkeit scheint es nicht der Fall zu sein.

Schon bei meiner Prüfung des Schumburg'schen Verfahrens[1] bin ich mit den Resultaten dieses Autors, sowie mit denen A. Pfuhl's in völligen Gegensatz gekommen, und, um es vorweg zu bemerken, bei der Prüfung des Hünermann'schen Verfahrens ist es mir nicht viel anders gegangen. Nach Abschluss meiner Versuche ersah ich aus einer im November d. J. erschienenen Arbeit von Rabs[2] über Trinkwasserdesinfection mittels Chlor, dass derselbe zunächst die von Lode mit Chlorkalk und Hünermann mit Natriumhypochloroit gemachten günstigen Erfahrungen vollständig bestätigt[3], dass aber die Resultate mit dem Hünermann'schen Verfahren gegenüber Choleravibrionen sofort ganz andere wurden, sobald er statt der bisher üblichen Prüfungsmethoden auf die von mir s. Z. angegebene Weise[4] untersuchte.

Ich glaube nicht zu weit zu gehen, wenn ich auf Grund der im Nachstehenden niedergelegten Beobachtungen die Befürchtung ausspreche, dass ausser dem Hünermann'schen auch die übrigen Verfahren der Trinkwasserdesinfection mittels Chlor zunächst noch als unzuverlässig in der sicheren Keimvernichtung anzusehen sind und eine wirklich praktische Bedeutung erst erlangen können, wenn sie eine Nachprüfung nach den am Schlusse von mir angegebenen Methoden bestehen würden. Die so günstigen bisherigen Resultate anderer Untersucher sind, wie ich vermuthe, durch die Unzulänglichkeit der angewendeten Untersuchungsmethoden vorgetäuscht. Zwei Fehler sind gemacht; einer von allen Untersuchern, dass sie viel zu kleine Mengen des inficirten und dann desinficirten Wassers auf entwickelungsfähig gebliebene Keime untersuchten, der zweite, dass eine Anzahl Untersucher zum Nachweis der lebensfähig gebliebenen Keime ausschliesslich mit festen Nährböden arbeitete.

Die Prüfung des Hünermann'schen Verfahrens gestaltete sich nun folgendermaassen.

Es wurde die vom Autor übersandte Chlorlösung (10 Procent NaOCl) zu den Versuchen verwandt, nachdem jedes Mal vor ihrer Benützung der Chlorgehalt im chemischen Laboratorium festgestellt war. Zur Entfernung

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXVII. S. 307 ff.
[2] *Hygienische Rundschau.* 1901. Nr. 22. S. 1085.
[3] *Ebenda.* S. 1086.
[4] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXVII. S. 312 u. 313.

des Chlors, nachdem dasselbe seine Wirkung gethan, wurde eine im chemischen Laboratorium hergestellte schwefligsaure Natriumlösung (Na_2SO_3) benutzt. Bei jedem einzelnen Versuch wurde mittels Jodzinkstärkelösung festgestellt, ob etwa noch freies Chlor, welches auf die Platten mit übertragen eine Beeinträchtigung des Wachsthums herbeiführen könnte, vorhanden war. Zutreffendenfalls wurde dasselbe durch Hinzufügen weiterer schwefligsaurer Natriumlösung beseitigt.

Sämmtliche Versuche wurden in gut verschliessbaren Glasgefässen angestellt, um einmal durch fleissiges Umschütteln während des Versuches eine gründliche Mischung des Chlors mit allen Theilen des zum Versuch dienenden Wassers zu erreichen, andererseits um ein Entweichen des Chlors noch während des Versuches zu verhindern. Allerdings wurden so für den Versuch etwas günstigere Bedingungen geschaffen, als dies bei der Anwendung des Verfahrens in der Praxis in den meisten Fällen wohl der Fall sein wird.

Zu den Versuchen wurde Wasser verschiedener Herkunft benutzt. Es wurde auf verschieden grosse Härte und wechselnden Gehalt an organischen Substanzen Werth gelegt, und so diente

1. destillirtes Wasser,
2. Brunnenwasser,
3. Wasser der hiesigen Wasserleitung.
4. Wasser aus dem Spandauer Schifffahrtscanal,

den Versuchszwecken.

Die keimvernichtende Kraft des Chlors wurde wie s. Z. die des Broms[1] in mehreren Versuchsreihen von mir festzustellen versucht, und zwar

1. in Wasser verschiedener Art ohne Zusatz pathogener Keime,
2. nach Zusatz von Choleravibrionen,
3. nach Zusatz von Typhusbacillen,
4. nach Zusatz von Ruhrbacillen.

Von den drei letzteren wurden stets 24 Stunden alte auf Agar bei 37° gewachsene Culturen benutzt. Die Culturen wurden sehr sorgfältig aufgeschwemmt und dann in dem zu inficirenden Wasser durch längeres, kräftiges Umschütteln so fein vertheilt, dass höchst selten nur noch feinste Partikelchen mit blossem Auge in dem Wasser wahrnehmbar waren. Im Allgemeinen wurde mit Zusatz geringerer Mengen pathogener Keime, als s. Z. bei der Prüfung des Schumburg'schen Verfahrens gearbeitet. Von einer Filtration der Aufschwemmungen wurde mit Ausnahme einiger Ver-

[1] Das Schumburg'sche Verfahren der Wasserreinigung mittels Brom. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXVII. S. 307 ff.

suche zu besonderem Zwecke aus den früher bei Prüfung des Schumburg'schen Bromverfahrens aus einander gesetzten Gründen[1] abgesehen.

Die nach Einwirkung des unterchlorigsauren Natrium zuzusetzende Lösung von schwefligsaurem Natrium wurde vor dem Gebrauch nicht sterilisirt, da wiederholt vorgenommene Plattenversuche ergaben, dass die Lösung sich keimfrei erhielt. Bei Anwendung steriler Pipetten war also nicht zu befürchten, dass dem zu den Versuchen dienenden Wasser noch nachträglich entwickelungsfähige Keime zugesetzt würden.

Die Mehrzahl der Versuche wurde wiederholt, der Controle halber. In den die Zusammenstellung der Versuche enthaltenden Tabellen sind die Wiederholungen der Versuche durch den der laufenden Nummer beigefügten Buchstaben a kenntlich gemacht.

---

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXVII. S. 317 u. 318: „Mit solchen Verhältnissen wie bei den durch doppelte Filter filtrirten Aufschwemmungen, wo gewissermaassen die einzelnen Keime im Wasser schwebend dem Angriff des Broms ausgesetzt sind, wird in der Praxis selten zu rechnen sein. Es mag dies vielleicht vorkommen, wenn Wasser durch typhusbacillenhaltigen Harn verunreinigt ist, oder in einem Wasser eine grosse Vermehrung pathogener Keime an einzelnen Stellen stattgefunden hat. Bei den hauptsächlich im Wasser in Betracht kommenden pathogenen Keimen der Cholera, des Typhus, der Dysenterie geschieht die Infection des Wassers hauptsächlich durch Darmausleerungen, und in diesen befinden sich, wenn dieselben auch in Flüssen oder Gewässern stark verdünnt werden, die einzelnen Keime nicht immer so isolirt wie in einer filtrirten Culturaufschwemmung.

Aus diesen Gründen würde selbst der Nachweis, dass das Bromverfahren die pathogenen Keime in filtrirten Culturaufschwemmungen sicher vernichtet, noch nicht dafür beweiskräftig sein, dass dasselbe in auf natürliche Weise verunreinigtem Wasser der Fall ist."

„Ausserdem habe ich bei meinen Untersuchungen gefunden, dass bei sorgfältiger Aufschwemmung von 24 Stunden alten Choleraculturen und nach längerem, kräftigem Umschütteln dieser Aufschwemmung in dem zu inficirenden Kolben mit Wasser höchst selten mit blossem Auge noch erkennbare Partikelchen sich finden, und bei den Versuchen mit Typhus war dies überhaupt niemals der Fall." Und ferner:

„Ehe ich diese Versuche sammt den Ergebnissen auch in einer kleinen Tabelle zusammenstelle, möchte ich noch auf die weitere Schlussfolgerung Schumburg's aus seinem zuletzt erwähnten Versuch zurückkommen, dass man nämlich, wie schon andere Untersucher angegeben haben, zu Desinfectionszwecken zu benutzende Bakterienaufschwemmung filtriren soll. Ich meine, das Gegentheil ist richtig, denn wenn man den Werth eines Desinfectionsmittels erfahren will, soll man demselben die zu vernichtenden Bakterien nicht unter Umständen, wie dieselben am leichtesten zu vernichten sind, gegenüberstellen, sondern mindestens so, wie sie in der Praxis zu vernichten sind, nämlich in den verschiedenen Absonderungen der Erkrankten, oder eher noch unter erschwerten Umständen. Erst dann wird man sich über den Werth eines Desinfectionsmittels für die Praxis nicht täuschen."

1.

Die erste Versuchsreihe erstreckte sich auf die Versuche, Wasser von verschieden grossem Keimgehalt von diesen Keimen mittels des Verfahrens zu befreien. Zur Ermittelung des Keimgehaltes diente vor und nach Anwendung des Chlorverfahrens das gewöhnliche Gelatineplattenverfahren. Während bei der Feststellung des Keimgehaltes vor dem Versuch je 1 ccm Wasser oder ein Theil davon benutzt wurde, dienten nach dem Versuch je 10 ccm in grossen Platten dazu, um weniger von Zufälligkeiten abhängig zu sein. Bei einem Vergleich der Zahlen in den beiden letzten Spalten der Tabelle I sind daher, um das richtige Reductionsverhältniss der Keimgehaltszahlen zu erhalten, die Zahlen in der vorletzten Spalte zehnmal grösser zu nehmen. Bei dem Versuch 5 sowie 5a wurde ein destillirtes Wasser genommen, welches schon länger im Laboratorium (in geschlossener Flasche) gestanden hatte, um recht viel Keime in demselben zu haben.

Tabelle I.

Lfd. Nr.	Art des Wassers	Versuchsmenge Liter	Menge der zugesetzten 10 procentigen Hünermann'schen Lösung in ccm	Einwirkungsdauer Minuten	Keimzahl des Wassers in 1 ccm vor dem Versuche	Keimzahl des Wassers in 10 ccm nach dem Versuche
1	destillirtes	1	0·4	10	224	1
1a	„	1	0·4	10	224	12
2	Leitung	1	0·4	10	45	0
2a	„	1	0·4	10	45	1
3	Brunnen	1	0·4	10	885	4
3a	„	1	0·4	10	885	0
4	Canal	1	0·4	10	487 000	21
4a	„	1	0·4	10	487 000	18
5	destillirtes	1	0·4	10	23 400	0
5a	„	1	0·4	10	23 400	0
6	Leitung	1	0·4	10	48	0
6a	„	1	0·4	10	48	0
7	Brunnen	1	0·4	10	870	0
7a	„	1	0·4	10	870	0
8	Canal	1	0·4	10	393 8 0	2
8a	„	1	0·4	10	393 800	1

Aus dieser Tabelle ergiebt sich, dass der Hünermann'schen Lösung eine ganz bedeutende keimvernichtende Wirkung inne wohnt. Unter 16 Fällen gelang es acht Mal in je 10 ccm des behandelten Wassers keine auf Gelatine entwickelungsfähigen

Keime mehr nachzuweisen, während das Wasser vorher bis 234000 Keime in 10 ccm enthalten hatte. Ob das Wasser wirklich völlig keimfrei war, hätte sich nur entscheiden lassen, wenn die ganze zum Versuch benutzte Menge durchsucht wäre, was mittels Plattenverfahrens ziemlich umständlich gewesen, aber nach Analogie der Versuche mit Cholera, Typhus und Ruhr mittels Anreicherungsverfahrens nach Zusatz concentrirter, steriler Peptonlösung und Aufenthalt bei 22° durchzuführen gewesen wäre. — In den übrigen acht Versuchen, in denen die Platten nicht völlig steril blieben, ist jedenfalls auch eine so erhebliche Reduction der Keimzahl eingetreten (z. B. von 4870000 auf 21 bezw. 18 und 3938000 auf 2 bezw. 1), dass sie einer völligen Sterilisirung fast gleich zu achten ist, denn eine Abtödtung der im Wasser zuweilen vorhandenen sporenbildenden Bakterien ist billiger Weise nicht zu verlangen.

2.

In der nun folgenden Versuchsreihe wurde die keimvernichtende Kraft der Hünermann'schen Lösung auf Choleravibrionen in den gleichen Wasserarten erprobt. Von den frisch auf Agar 24 Stunden bei 37° gewachsenen Culturen wurden verschieden grosse Mengen: $^1/_2$, $^1/_4$ Cultur und je 3 und 1 Oese von Aufschwemmungen (1. Agarcultur in 10 ccm Wasser) dem zu untersuchenden Wasser zugesetzt. Das weitere Verfahren gestaltete sich genau so wie s. Z. bei den gleichen Untersuchungen mit der Schumburg'schen Brömlosung.[1]

Die Resultate dieser Versuchsreihe enthält die folgende Tabelle II.

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXVII. S. 312: „Zum Nachweis der im bromirten Wasser etwa noch lebend gebliebenen Vibrionen wurde das Pepton-Anreicherungsverfahren und die Cholerarothreaction benutzt. Anfangs wurden nebenher auch noch Gelatineplatten angelegt (Versuch 1 bis 12 der Tabelle II). Die angewandte Untersuchungsmethode erlaubte das ganze bromirte Wasser nach lebend gebliebenen Choleravibrionen abzusuchen, und hierauf ist das grösste Gewicht zu legen, wie die Versuche klar erkennen lassen. Im Einzelnen gestaltete sich das Verfahren so, dass, nachdem das Brom im Wasser durch den Zusatz der aufgelösten Tabletten unwirksem gemacht war, dem inficirten Wasser etwas gesättigte Sodalösung zugesetzt wurde, um für das Anreicherungsverfahren eine gute alkalische Reaction herzustellen. Dann wurde die ganze Wassermenge in kleine, 100 bis 200 ccm haltende Kölbchen vertheilt, und einem jeden soviel einer concentrirten Pepton-Kochsalzlösung zugesetzt, dass eine 1 procentige Pepton-Kochsalzlösung entstand. Die Kölbchen wurden 24 Stunden bei 37° gehalten und dann von der Oberfläche eines jeden 3 Oesen in Röhrchen mit 1 Procent Pepton-Kochsalzlösung übertragen, welche wiederum 24 Stunden bei 37° gehalten wurden. Nachdem die zweite Uebertragung stattgefunden, wurde mit den einzelnen Kolbchen die Cholerarothreaction angestellt, und wo eine solche nicht eintrat, wurde dieselbe mit dem entsprechenden Röhrchen am nächsten Tage noch einmal versucht. Diese Vorsicht

Tabelle II.

lfd. Nr.	Art des Wassers	Versuchsmenge Liter	Zugesetzte Menge einer Agarcultur	Menge der zugesetzten 10 procent. Hünermann'schen Lösg. in ccm	Einwirkungsdauer Minuten	Zahl der angesetzten Kölbchen	Zahl der die Rothreaction gebenden Kölbchen
1	destillirtes	1	1/2	0·4	10	6	2
1a	„	1	1/2	0·4	10	8	7
2	Leitung	1	1/2	0·4	10	9	9
2a	„	1	1/2	0·4	10	9	8
3	Brunnen	1	1/2	0·4	10	7	0
3a	„	1	1/2	0·4	10	10	10
4	Canal	1	1/2	0·4	10	6	0
4a	„	1	1/2	0·4	10	8	8
5	destillirtes	1	1/4	0·4	10	8	8
6	Leitung	1	1/4	0·4	10	7	7
7	Brunnen	1	1/4	0·4	10	7	1
8	Canal	1	1/4	0·4	10	7	1
9	destillirtes	1	3 Oesen einer Aufschwemmung in 10 ccm	0·4	10	8	0
9a	„	1	„	0·4	10	10	0
10	Leitung	1	„	0·4	10	7	0
10a	„	1	„	0·4	10	7	2
11	Brunnen	1	„	0·4	10	7	0
11a	„	1	„	0·4	10	8	2
12	Canal	1	„	0·4	10	8	4
12a	„	1	„	0·4	10	7	6
13	destillirtes	1	1 Oese einer Aufschwemmung in 10 ccm	0·4	10	8	0
13a	„	1	„	0·4	10	10	0
14	Leitung	1	„	0·4	10	8	0
14a	„	1	„	0·4	10	8	1
15	Brunnen	1	„	0·4	10	9	2
15a	„	1	„	0·4	10	9	2
16	Canal	1	„	0·4	10	9	7
16a	„	1	„	0·4	10	8	4

erwies sich als durchaus erforderlich, denn es gelang mir verschiedene Male erst nach der zweiten Anreicherung, eine Rothreaction zu erzielen. Auch stellte es sich bald heraus, dass es zweckmässiger war, das zum Anreichern und zu Rothreaction bestimmte Wasser in eine Anzahl kleiner Kolben zu vertheilen, als eben mit der ganzen Wassermenge in einem grösseren Gefäss diesen Versuch zu machen.

Selbstverständlich wurde von jedem zum Versuch benutzten Wasser durch Controlkölbchen festgestellt, dass in demselben keine Rothbildner vorhanden waren."

Die Resultate dieser Versuchsreihe sind recht wenig günstige. Unter 28 Versuchen gelang es nur neun Mal, die Choleravibrionen in der angegebenen Zeit von 10 Minuten im Wasser völlig abzutödten; und der Werth dieses Erfolges reducirt sich bei näherer Betrachtung nicht unerheblich. Nur zwei Mal nämlich ergab, nachdem im ersten Versuch die Choleravibrionen vernichtet waren, die Wiederholung des Versuches das gleiche Resultat (Nr. 9 und 9a, 13 und 13a); in den übrigen Fällen (3, 3a, 4, 4a, 10, 10a, 11, 11a, 14, 14a) ergaben die unter völlig gleichen Bedingungen angestellten Versuche ein Mal ein positives und dann ein negatives Resultat; ausserdem handelte es sich bei den beiden mit ihren Wiederholungen übereinstimmenden Versuchen um solche, die mit destillirtem Wasser angestellt waren, also die günstigsten Chancen für das Gelingen boten, aber am wenigsten mit den Anforderungen für die praktische Anwendung des Verfahrens in Einklang zu bringen sind.

In den letzten acht Versuchen waren nur sehr geringe Mengen Choleravibrionen (1 Oese einer Culturaufschwemmung in 10 ccm Wasser, d. h. wenn man 1 Oese gleich 2 mg und den Cubikcentimeter zu 1 grm rechnet = $^1/_{5000}$ Cultur) dem Wasser zugesetzt, trotzdem versagte das Verfahren unter acht Malen fünf Mal.

Es ist auch nicht ausser Acht zu lassen, dass alle Versuche mit Choleraculturen, die sehr lange auf künstlichen Nährböden fortgezüchtet sind, angestellt wurden, welche vielleicht weniger widerstandsfähig sind, als solche, die bei praktischer Anwendung des Verfahrens in Frage kommen.

Im Uebrigen beweisen diese Versuche wiederum, worauf ich schon früher hingewiesen, dass in einem Theile des Wassers die Choleravibrionen (und natürlich auch andere zu Versuchen benutzte Bakterien) vernichtet sein können, in einem anderen aber nicht, und dass es daher zur Gewinnung einwandsfreier Resultate dringend nöthig ist, die gesammte inficirte und zum Versuch benutzte Wassermenge auf entwickelungsfähige Vibrionen bezw. Keime zu untersuchen.

Bei einem Vergleich der Resultate der ersten beiden Versuchsreihen muss es auffallen, dass das Verfahren den an und für sich verhältnissmässig leicht zu vernichtenden Choleravibrionen sich nicht so bewährte wie bei den gewöhnlichen Wasserbakterien. Dies kann ein Mal darin seinen Grund haben, wie Schumburg schon bei seinen Versuchen vermuthete[1], dass die Bakterien in den Agarculturaufschwemmungen nicht

[1] *Veröffentlichungen aus dem Gebiete des Militär-Sanitätswesens.* Heft 15. S. 106—107.

so fein vertheilt und der Einwirkung des Desinfectionsmittels nicht so sehr ausgesetzt seien wie z. B. die Wasserbakterien unter natürlichen Verhältnissen, andererseits kann aber der Grund darin liegen, dass die zum Nachweis der lebend, bezw. entwickelungsfähig gebliebenen Bakterien angewandten Methoden, im ersten Falle das gewöhnliche Plattenverfahren (allerdings mit je 10 ccm Wasser), im anderen die Anreicherung der ganzen zum Versuche benutzten Wassermenge nicht gleichwerthige Resultate ergaben.

Um diese Frage zur Entscheidung zu bringen, wurde nach beiden Richtungen hin ein Versuch angestellt.

Zunächst wurden Versuche mit durch Filtrirpapier filtrierten Aufschwemmungen von Choleraculturen gemacht. Ich bemerke hier aber nochmals ausdrücklich, dass dies nur zu eben erwähntem Zwecke geschah, dass aber aus diesen Versuchen, soweit sie günstig ausfielen, aus früher eingehend erörterten Gründen[1] gar nichts für die Brauchbarkeit des Hünermann'schen Verfahrens für die Praxis geschlossen werden darf. Die Versuche wurden im Uebrigen analog den in Tabelle II enthaltenen ausgeführt, und sind in der nächsten Tabelle zusammengestellt.

Tabelle III.

Lfd. Nr.	Art des Wassers	Versuchsmenge Liter	Zugesetzte Culturmenge (filtrirt)	Menge der zugesetzten Hünermann'schen Lösung in ccm	Einwirkungsdauer Minuten	Zahl der angesetzten Kölbchen	Zahl der die Rothreaction gebenden Kölbchen
1	destillirtes	1	1/2 Cultur	0·4	10	9	0
1a	„	1	1/2 „	0·4	10	9	1
2	Leitung	1	1/2 „	0·4	10	7	0
2a	„	1	1/2 „	0·4	10	8	1
3	Brunnen	1	1/2 „	0·4	10	10	0
3a	„	1	1/2 „	0·4	10	9	6
4	Canal	1	1/2 „	0·4	10	7	6
4a	„	1	1/2 „	0·4	10	10	4

Also auch die Choleravibrionen in filtrirten Aufschwemmungen wurden unter acht Mal nur drei Mal vernichtet (Nr. 1, 2, 3) und bei der Wiederholung der drei Versuche nicht völlig (1a bis 3a).

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXVII. S. 318.

Hiernach ist es mir nicht wahrscheinlich, dass die Vertheilungsart der Keime im Wasser die merklichen Unterschiede zwischen den in der Tabelle I und II enthaltenen Resultaten verschuldet habe. Es handelte sich nun weiter um einen Vergleich der Leistungsfähigkeit des gewöhnlichen Plattenverfahrens mit grösseren Wassermengen, gegenüber dem Anreicherungsverfahren. Zu diesem Zweck wurden die Aufschwemmungen der Choleraculturen in sterilem Wasser gemacht und den sorgfältig sterilisirten und auf Keimfreiheit geprüften verschiedenen Wasserarten zugesetzt. Es geschah dies deshalb, um auf den Platten, soweit Colonieen wuchsen und zu zählen waren, nur Cholera zu haben. Nachdem das Hünermann'sche Verfahren durchgeführt war, wurden zunächst von jedem Liter Wasser mittels steriler Pipetten je vier Mal 10 ccm entnommen, in grossen Schalen zu Agarplatten verarbeitet, und 24 Stunden bei 37° belassen. Der Rest des Wassers (960 ccm) wurde mittels Anreicherungsverfahren und Cholerarothreaction wie bei den anderen Versuchen untersucht.

Am nächsten Tage wurden die auf den Platten zur Entwickelung gekommenen Keime der Sicherheit halber noch in Röhrchen mit Peptonlösung abgeimpft zur Anstellung der Rothreaction, obgleich, abgesehen von Luftkeimen, kaum etwas Anderes als Cholera auf den Platten zur Entwickelung kommen konnte. Das Resultat dieser in der nächsten Tabelle enthaltenen Versuchsreihe war ein recht überraschendes und lehrreiches:

Tabelle IV.

Lfd. Nr.	Art des Wassers	Versuchsmenge in Liter	Eingesetzte Culturmenge	Menge der zugesetzt. Hünermann'schen Lösung in ccm	Einwirkungsdauer in Min.	Zahl der angesetzten Kölbchen	Zahl der die Rothreaction gebenden Kölbchen	Zahl der Colonieen auf je vier Platten in 10 ccm darunter Cholera-keime	andere Keime
1	destillirtes	1	1	0·4	10	9	9	0	2
2	Leitung	1	1/2	0·4	10	8	2	0	0
3	Brunnen	1	3 Oesen	0·4	10	8	1	0	4
4	Canal	1	3 „	0·4	10	10	7	0	0

Bei der näheren Prüfung der auf den Agarplatten gewachsenen Colonieen ergab sich, was schon mikroskopisch wahrscheinlich erschien, dass es sich nur um darauf gefallene Luftkeime und nicht auch nur bei einer einzigen Colonie um Cholera handelte!

Es stellte sich also heraus, dass in den vier Versuchen das Plattenverfahren bei 37° mit je 40 ccm Wasser keine Choleravibrionen mehr zur Entwickelung kommen liess — selbst dort nicht, wo sämmtliche Kolben Rothreaction gaben (Nr. 1) —, während mittelst der Anreicherungsmethode in jedem Falle noch entwickelungsfähige Vibrionen in mehr oder minder grosser Menge nachgewiesen werden konnten.

Hiermit ist die Ueberlegenheit des Anreicherungsverfahrens über das bisher so viel geübte Plattenverfahren und die eventuelle Unzulänglichkeit des letzteren für derartige Untersuchungen, wie die vorliegenden, besiegelt.

Diese Resultate lassen mir nachträglich noch die Differenzen zwischen meinen Resultaten und denen Schumburg's und A. Pfuhl's bei den Untersuchungen über die Einwirkung des Bromverfahrens auf Choleravibrionen im Wasser, welche ich damals[1] mit den verschieden grossen zum Nachweis derselben benutzten Mengen des bromirten Wassers zu erklären suchte, in anderem Lichte erscheinen. Vielleicht sind es damals nicht einzig und allein die verschiedenen Versuchsmengen (1 ccm und die ganze zum Versuch benutzte Wassermenge) gewesen, sondern auch der Unterschied zwischen dem Plattenverfahren und der Anreicherungsmethode, welche solche grosse Differenzen in den Resultaten zeitigten.

Das Ergebniss der letzten Versuche veranlasste mich, nun doch nochmals auf die erste Versuchsreihe zurückzugreifen und den dort schon angedeuteten Versuch anzustellen, in Wasser, welches nach dem Plattenverfahren keimfrei erschien, mittels des Anreicherungsverfahrens noch nach entwickelungsfähigen Keimen zu suchen.

Es wurde genau wie in der ersten Versuchsreihe gearbeitet, und nur nach Entnahme der 10 ccm für die Platten mittels steriler Pipette der ganzen übrigen Wassermenge eine sterile, concentrirte Kochsalz-Peptonlösung zugesetzt und dieselbe bei 22° gehalten. Täglich wurden dann Gelatineplatten mit je 1·0 nnd 0·1 ccm angelegt und bei 22° aufbewahrt.

Wie die Tabelle V zeigt, waren beim Versuch 3 und 4 schon mit dem Plattenverfahren entwickelungsfähige Keime nachgewiesen, und konnte daher nur noch für Versuch 1 und 2 das Anreicherungsverfahren zum Vergleich herangezogen werden.

Das Resultat stand in völliger Uebereinstimmung mit dem der Versuche mit Cholera.

---

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXVII. S. 317.

Tabelle V.

Lfd. Nr.	Art des Wassers	Versuchsmenge Liter	Menge der zugesetzten Hünermann'schen Lösung in ccm	Einwirkungsdauer Minuten	Zahl der zur Entwikelung gekommenen Colonieen auf Gelatineplatte mit 10 ccm	Platten nach dem Anreicherungsverfahren
1	destillirtes	1	0·4	10	0	übersät mit Colonieen
2	Leitung	1	0·4	10	0	"
3	Brunnen	1	0·4	10	5	—
4	Canal	1	0·4	10	3	—

Schon die Platten, welche 24 Stunden nach der Anreicherung angelegt waren, waren nach weiteren 24 Stunden mit Colonieen übersät.

Das nach dem Plattenverfahren keimfrei erscheinende Wasser beherbergte also doch noch entwickelungsfähige Keime.

Dieses Resultat lässt das an und für sich so günstige der Tabelle I denn doch noch in anderem Lichte erscheinen, indem Zweifel, ob bei den Versuchen völlige Keimfreiheit bezw. eine so hochgradige Reduction der Keimzahl, wie sie das Plattenverfahren ergeben, in Wirklichkeit erreicht ist, wohl mehr als berechtigt sind.

3.

Für die dritte Versuchsreihe dienten Typhusbacillen als Versuchsobject. Die Versuchsanordnung war die, dass die zu inficirenden Wasserarten vorher sorgfältigst sterilisirt wurden, um später bei der Identificirung der gewachsenen Colonieen keine Schwierigkeiten in Folge anderer, aus dem Wasser stammender und noch zur Entwickelung gekommener Keime zu haben. Das Agglutinationsverfahren mit einem Serum 1:100 verdünnt, diente zur Erkennung der gewachsenen Typhusbacillen. Zunächst wurde zum Nachweis der lebend gebliebenen Typhuskeime nur das Agarplattenverfahren mit je 10 ccm Wasser angewandt, als aber schon in den Versuchen Nr. 1, 3a, 4, 7 u. 8 nur wenige und bei Nr. 5 u. 6 gar keine Typhuscolonieen auf den gewöhnlichen Agarplatten zur Entwickelung kamen, wurde bei den Versuchen Nr. 9 bis 16a das Anreicherungsverfahren mittels steriler Pepton-Kochsalzlösung bei 37° 24 Stunden angewandt und dann erst das Plattenverfahren. Zu letzterem wurde ausserdem nicht der gewöhnliche Agar benutzt, sondern ein besonderer Nährboden, welcher die Typhuscolonieen ganz charakteristisch wachsen lässt[1], so dass dieselben schon

[1] Ueber denselben wird in nächster Zeit von Stabsarzt Dr. v. Drigalski und Dr. Conradi, welchen die Herstellung gelungen, berichtet werden. — Anmerkung

makroskopisch deutlich von anderen zu unterscheiden sind. Es wurden die Untersuchungen dadurch sehr erleichtert, aber trotzdem nicht verabsäumt, in jedem Falle auch noch die Agglutinationsprobe zu machen.

Die Benutzung dieses Nährbodens bot noch den weiteren Vortheil, dass in jedem Fall zu sehen war, ob es gelungen war, die Versuche von Anfang bis zu Ende steril, d. h. unter Ausschluss aller anderen, als der Typhusbakterien durchzuführen. Wie ich gleich bemerken will, ist dies unter den 12 Versuchen 11 Mal vollkommen gelungen, und bei der einen Ausnahme waren neben den bei Weitem überwiegenden Typhuscolonieen einige wenige andere Colonieen zur Entwickelung gekommen, welche wegen ihrer minimalen Anzahl nicht stören konnten.

Vor dem Anreicherungsverfahren und der Anwendung des besonderen Nährbodens wurden zu Vergleichszwecken stets auch noch gewöhnliche Agarplatten mit 10^{ccm} Wasser angelegt.

Eine Uebersicht über die gewonnenen Resultate giebt die nächste Tabelle VI. Der Vollständigkeit der Versuche halber sind auch Versuche mit filtrirter Culturaufschwemmung hinzugefügt (Nr. 17 bis 20).

Lässt man bei Betrachtung des Inhalts der Tabelle zunächst die letzte Spalte ausser Acht, so würde eine erhebliche Einwirkung des Verfahrens auf Typhusbacilllen nicht zu verkennen sein. Unter 28 Versuchen waren 9 Mal Typhusbacillen in 10^{ccm} Wasser mittels des Plattenverfahrens überhaupt nicht mehr und 11 Mal nur in einzelnen Exemplaren nachzuweisen, während 7 Mal, darunter 2 Mal bei filtrirter Culturaufschwemmung (Nr. 18 u. 20), noch zahlreiche Typhusbacillen lebend geblieben waren.

Sobald man aber die in der letzten Spalte der Tabelle enthaltenen Ergebnisse mit in Rechnung zieht, ändert sich das Bild vollkommen. Nach Anwendung des Anreicherungsverfahrens ist unter 16 Versuchen nicht ein einziges Mal die völlige Vernichtung der Typhuskeime gelungen — während es nach dem gewöhnlichen Plattenverfahren unter diesen 16 Versuchen 7 Mal der Fall gewesen sein sollte — auch dann nicht, wenn zur Einsaat nur eine geringe Menge Typhusbacillen (3 Oesen einer Aufschwemmung im Condenswasser der Cultur) benutzt worden war. —

Die Versuche bestätigen, abgesehen von der ungenügenden Wirkung des Verfahrens Typhusbacillen gegenüber, ebenso wie die vorhergehenden die Unzulänglichkeit des bisher geübten Plattenverfahrens für derartige Untersuchungen.

---

bei der Correctur: Die Veröffentlichung ist inzwischen erfolgt in *dieser Zeitschrift.* Bd. XXXIX. S. 291—297.

Tabelle VI.

Laufende Nr.	Art des Wassers	Versuchsmenge in Liter	Zugesetzte Culturmenge	Menge der zugesetzten Hüner-mann'schen Lösung in ccm	Einwirkungsdauer in Minuten	Typhus-Colonieenzahl auf Agarplatten mit je 10 ccm Wasser	Typhuscolon. auf Platten. 3. u. 4. Verdünnung von je 0·1 Wasser nach dem Anreicherungsverfahren
1	destillirtes	1	1/4 Cultur	0·4	10	3	—
1a	„	1	1/4 „	0·4	10	sehr zahlreich	—
2	Leitung	1	1/4 „	0·4	10	„ „	—
2a	„	1	1/4 „	0·4	10	Platte verdorben	—
3	Brunnen	1	1/4 „	0·4	10	sehr zahlreich	—
3a	„	1	1/4 „	0·4	10	2	—
4	Canal	1	1/4 „	0·4	10	7	—
4a	„	1	1/4 „	0·4	10	sehr zahlreich	—
5	destillirtes	1	1 Oese Cultur	0·4	10	0	—
6	Leitung	1	1 „ „	0·4	10	0	—
7	Brunnen	1	1 „ „	0·4	10	2	—
8	Canal	1	1 „ „	0·4	10	1	—
9	destillirtes	1	1/4 Cultur	0·4	10	2	übersät mit Colonieen
10	Leitung	1	1/4 „	0·4	10	3	„
11	Brunnen	1	1/4 „	0·4	10	5	„
12	Canal	1	1/4 „	0·4	10	2	„
13	destillirtes	1	3 Oesen Condenswasser-Aufschwemmung	0·4	10	0	„
13a	„	1	„	0·4	10	0	„
14	Leitung	1	„	0·4	10	0	„
14a	„	1	„	0·4	10	0	„
15	Brunnen	1	„	0·4	10	7	„
15a	„	1	„	0·4	10	0	„
16	Canal	1	„	0·4	10	sehr zahlreich	„
16a	„	1	„	0·4	10	0	„
17	destillirtes	1	1/4 Cultur filtrirt	0·4	10	0	„
18	Leitung	1	1/4 „	0·4	10	zahlreich	„
19	Brunnen	1	1/4 „	0·4	10	3	„
20	Canal	1	1/4 „	0·4	10	sehr zahlreich	„

4.

In der vierten und letzten Versuchsreihe dienten Ruhrbacillen[1] als Versuchsobject. Es wurde in gleicher Weise mit sterilen Materialien gearbeitet wie bei den Versuchen mit Typhus, und neben dem Plattenverfahren das Anreicherungsverfahren mit nachfolgender Benutzung von Platten aus einem besonderen Nährboden[1] für Ruhrbacillen, sowie der Agglutinationsprobe angewendet.

Das Ergebniss war folgendes:

Tabelle VII.

Lfd. Nr.	Art des Wassers	Versuchsmenge i. L.	Zugesetzte Culturmenge	Menge der zugesetzten Hünermann'schen Lösung in ccm	Einwirkungsdauer in Min.	Ruhrcolonieenzahl auf Agarplatten mit 10 ccm	Ruhrcolonieenzahl auf Platten, 3. Verdünnung mit 0·1 ccm nach dem Anreicherungsverfahren
1	destillirtes	1	1/4 Cultur	0·4	10	0	sehr zahlreich
1a	„	1	1/4 „	0·4	10	0	übersät
2	Leitung	1	1/4 „	0·4	10	0	„
2a	„	1	1/4 „	0·4	10	0	„
3	Brunnen	1	1/4 „	0·4	10	0	„
3a	„	1	1/4 „	0·4	10	0	„
4	Canal	1	1/4 „	0·4	10	0	„
4a	„	1	1/4 „	0·4	10	0	keine

Das Resultat ist also analog den vorhergehenden Versuchen. Die **Ruhrbacillen werden nicht mit Sicherheit abgetödtet. Trotzdem mittels des Plattenverfahrens in 10 ccm keine mehr nachzuweisen waren, ergab das Anreicherungsverfahren unter 8 Malen 7 Mal ein positives Resultat.** Auf einzelnen Platten waren einige Colonieen von Luftkeimen gewachsen.

Bevor ich das Gesammtresultat meiner Untersuchungen zusammenfasse, möchte ich noch eine Erklärung für diese abweichenden Resultate des Plattenverfahrens zu geben versuchen. Wie einige Versuche zeigten, in denen auf Agarplatten, von einer Aufschwemmung einer Oese Cultur in 1 Liter sterilisirtem Wasser angelegt, nach 24 Stunden bei 37° ein sehr reichliches Wachsthum der eingesäten Bakterien stattgefunden hatte, kann es sich bei der Anwendung des Plattenverfahrens ebenso wenig um eine Schädigung der Bakterien auf plasmolytischem Wege durch das Uebertragen aus dem zum Versuch dienenden Wasser in dem salzhaltigen Nährагar, wie um eine mangelhafte Beschaffenheit des benutzten Nähragars gehandelt haben.

[1] Veröffentlichung hierüber von anderer Seite steht noch bevor.

Auch die anerkannt rapide Vermehrung der Bakterien in ihnen zusagenden Nährböden reicht wohl für eine genügende Erklärung nicht aus. Denn wenn sich z. B. bei den Versuchen mit Typhus wirklich in 10 ccm nur 2 bis 3 bis 4 noch entwickelungsfähige Keime gefunden hätten, während sich nach der Anreicherung auf den Verdünnungen der mit 0·1 ccm angelegten Platten noch bis 900 Colonieen fanden, so würde das heissen, dass eine Vermehrung in 24 Stunden stattgehabt haben musste, die jede Vorstellung eigentlich übersteigt.

Die am meisten Wahrscheinlichkeit für sich habende Erklärung ist mir die, dass das dem Wasser zugesetzte Desinfectionsmittel (vielleicht auch im Verein mit dem später zugesetzten Bindemittel) durch Eindringen und Haftenbleiben in den Bakterienhüllen einen Theil derselben zunächst nur in ihrer Entwickelungsfähigkeit geschädigt hat. Während nun bei der Anreicherung im flüssigen, zum weitaus grössten Theil aus Wasser bestehenden Nährboden auf endosmotischem Wege die Bakterien die sie nur schädigenden Substanzen bald wieder abgeben, bleibt dieser Vorgang auf festen Nährböden aus, oder geht nur so langsam vor sich, dass eine bleibende Wachsthumshemmung die Folge ist.

Eine solche Erklärung würde nicht nur mit sämmtlichen Untersuchungsresultaten im Einklang stehen, sondern durch einzelne derselben noch eine besondere Stütze erfahren, nämlich durch alle diejenigen, in denen die Platten steril blieben und das Anreicherungsverfahren die entwickelungsfähig gebliebenen Keime nachwies.

Ganz besonders möchte ich in dieser Beziehung den Versuch Nr. 1 der Tabelle IV hervorheben. Hier waren nach dem Chlorverfahren soviel Choleravibrionen entwickelungsfähig geblieben, dass in jedem der 9 Kölbchen, in welche die zum Versuch benutzte Wassermenge gethan war, nach der Anreicherung eine ausgesprochene Rothreaction auftrat, während das Plattenverfahren vor der Anreicherung, trotzdem 40 ccm des Wassers, also der 25. Theil der ganzen Versuchsmenge (in der eine gleichmässige Vertheilung des eingesäten Volumens stattgefunden) und ungefähr die Hälfte der in einem der Kölbchen enthaltenen Wassermenge, hierzu benutzt waren, nicht einen einzigen noch entwickelungsfähigen Choleravibrio nachwies! —

Die Thatsache der Unzuverlässigkeit des Plattenverfahrens für den Nachweis der nach Desinfectionsversuchen noch entwickelungsfähig gebliebenen Keime überhaupt, wie auch ihrer

Zahl nach, ist ganz besonders hervorzuheben, weil gerade neuere und neueste Arbeiten das Plattenverfahren bei der Prüfung von Desinfectionsmitteln wieder in den Vordergrund stellen.

So sind 1897 Krönig und Paul bei allen ihren so zahlreichen, mit Desinfectionsmitteln aller Art angestellten Versuchen[1] von den flüssigen Nährböden abgegangen und zu einem ganz gleichmässig dargestellten Agar übergegangen, weil die flüssigen Nährböden nicht erlaubten, festzustellen, wie viele Bakterien nach der Desinfection noch keimfähig geblieben wären.[2] Dies erlaubt nun aber, wie meine Versuche feststellen, auch das Agarplattenverfahren nicht, denn ausser den auf den Platten zum Wachsthum gekommenen Keimen können sich zweifellos unter den eingeführten viele befunden haben, die auf anderen, günstigeren (flüssigen) Nährböden noch zur Entwickelung gekommen wären und daher nicht als „entwickelungsunfähig“ ohne Weiteres bezeichnet werden können und in den Versuchen von Krönig und Paul Platten ohne Wachsthum erhielten, ist damit durchaus nicht bewiesen, dass die eingesäten Bakterien überhaupt nicht mehr entwickelungsfähig waren. Nebenbei sei noch bemerkt, dass genannte Autoren, wohl in Folge des Plattenverfahrens, viel zu kleine Aussaatmengen zum Nachweis eben noch entwickelungsfähiger Keime benutzt haben. Auch in einer erst im April v. Js. erschienenen Arbeit: „Entwurf zur einheitlichen Werthbestimmung chemischer Desinfectionsmittel mit besonderer Berücksichtigung der neuen Theorien der Lösungen“ sagt Paul[3], nachdem er seine und Krönig's Forderung: „Die Zahl der noch entwickelungsfähig gebliebenen Bakterien muss nach Ablauf derselben Zeit festgestellt werden, aus diesem Grunde können nur feste Nährböden benutzt werden“, citirt hat[4], dass wir bei Desinfectionsversuchen für quantitative Versuche an der Verwendung fester Nährböden festhalten müssen.[5] Er schlägt daher für die Ausführung der einheitlichen Werthbestimmung den Agarnährboden von gleichmässiger Herstellung vor.

Ich bin auf Grund meiner Versuche zu der Ueberzeugung gekommen, dass wir bisher keine Untersuchungsmethode besitzen, um die keimschädigende Wirkung eines Desinfectionsmittels quantitativ mit Sicherheit zu bestimmen, — und damit wird auch die vergleichsweise Bestimmung unsicher — denn das allein für solchen Zweck anwendbare Plattenverfahren ist

[1] Ueber die Grundlagen der Lehre von Giftwirkung und Desinfection. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXV. S. 1—112.

[2] *Ebenda.* S. 16.

[3] *Zeitschrift für angewandte Chemie.* 1901. S. 333 u. 357.

[4] *Ebenda.* S. 337.

[5] *Ebenda.* S. 357.

nicht zuverlässig genug. Dasselbe erlaubt höchstens von „auf Agar bezw. Gelatine nicht mehr entwickelungsfähigen Keimen“ zu sprechen, was für die praktische Anwendbarkeit eines Desinfectionsmittels unter Umständen recht wenig bedeuten kann, wie meine Versuche zeigen, und ausserdem gestattet das Verfahren immer nur verhältnissmässig kleine Materialmengen ohne grössere Schwierigkeiten zu durchsuchen.

Wir können nur mittels Anwendung flüssiger Nährböden, Anreicherung, Benutzung grösserer Mengen Untersuchungsmaterials und dann erst folgendem Plattenverfahren feststellen, ob ein Desinfectionsmittel alle eingesäten Keime entwickelungsunfähig gemacht hat oder nicht, und das bleibt für die Beurtheilung des praktischen Werthes solcher Mittel stets die Hauptsache.

Mein Schlussurtheil über das geprüfte Hünermann'sche Verfahren muss ich dahin zusammenfassen:

1. Das Verfahren scheint den Keimgehalt eines auch stärker verunreinigten und sehr bakterienreichen Wassers erheblich herabzusetzen, in einzelnen Fällen dasselbe vielleicht auch völlig keimfrei zu machen.

2. Das Verfahren vernichtet in einzelnen Fällen Cholerakeime mit Sicherheit, doch bilden diese Fälle nur die Ausnahme. Häufig findet nur eine sehr erhebliche Verringerung der Zahl statt.

3. Typhusbacillen werden nicht sicher vernichtet, wenn auch eine gewisse Schädigung derselben in vielen Fällen unverkennbar ist.

4. Auch filtrirten Culturaufschwemmungen von Cholera- und Typhusbakterien gegenüber ist das Verfahren durchaus nicht zuverlässig.

5. Ruhrbacillen werden nicht sicher vernichtet, trotzdem dieselben nach den bisherigen Erfahrungen zu den leicht zu vernichtenden pathogenen Keimen zu gehören scheinen.

6. Das Hünermann'sche Verfahren scheint im Ganzen eine grössere keimschädigende Wirkung als das Schumburg'sche Verfahren mittels Brom auszuüben[1], namentlich gegenüber den Typhuserregern, auf welche es bei uns in erster Linie ankommen würde.[1]

[1] Auch Bollner (*Wiener med. Wochenschrift*, 1901, Nr. 31—33) spricht dem Chlor eine intensivere Wirkung als dem Brom zu, indem er sagt: „in ihrer sterili-

Wenn nun auch nach heutigen Anschauungen ein Wasser, welches nachweislich noch entwickelungsfähige Krankheitserreger enthält, vom Genuss und überhaupt vom Gebrauch auszuschliessen ist, so dürfte es doch vielleicht durchaus nicht gleichgültig sein, in welchen Mengen, bezw. in wieweit in ihrer Entwickelungsfähigkeit geschädigt pathogene Keime von Menschen aufgenommen werden. Das Hünermann'sche Verfahren dürfte daher immerhin einen wesentlichen Fortschritt bedeuten und bei einer etwa möglichen Vervollkommnung das erstrebenswerthe Ziel einer völligen Vernichtung von pathogenen Keimen im Wasser vielleicht ganz erreichen. Ob eine längere Einwirkung der Chlorlösung, oder grossen Mengen derselben, oder Beides günstigere Ergebnisse zeitigen würden, müssten Versuche lehren. Die praktische Verwendbarkeit des Verfahrens würde aber jedenfalls durch die Forderung einer 20 Minuten oder noch länger dauernden Einwirkung der Chlorlösung eine erhebliche Einschränkung erfahren, sind doch schon 10 Minuten für solche Zwecke praktisch eine recht lange Zeit!

Die grossen Unterschiede zwischen Hünermann's und meinen Untersuchungsresultaten finden ihre Erklärung in der Verschiedenheit der angewandten Untersuchungsmethoden z. Th. wohl auch nebenher darin, dass Hünermann mit filtrirten Culturaufschwemmungen gearbeitet hat. Hünermann ist wohl bei seinen Untersuchungen ähnlich wie s. Zt. Schumburg und A. Pfuhl beim Bromverfahren in erster Linie durch die Benutzung viel zu kleiner Mengen des Untersuchungsmaterials und auch durch die Unzuverlässigkeit des Plattenverfahrens irregeführt worden.

Zum Schlusse meiner Arbeit möchte ich nun noch kurz die Anforderungen präcisiren, welche meiner Ansicht nach bei Untersuchungen, wie die vorliegende und ähnlichen an die Untersuchungsmethode gestellt werden müssen, um zu einwandsfreien Resultaten zu gelangen.

1. Das bisher geübte Plattenverfahren (Agar, Gelatine) mit festen Nährböden ist nur dann ausschlaggebend, wenn die Platten **nicht steril** bleiben, bezw. wenn sich auf denselben die zu den Versuchen benutzten Keime wiederfinden. Zweckmässig sind Platten mit mindestens 10 ccm des Untersuchungsmaterials, oder auch mehrere solche.

sirenden Wirkung erweisen sich also beide Verfahren (Loden, Schumburg) wenn auch vielleicht nicht als gleichwerthig, so doch genügend zuverlässig" und „das Chlorkalkverfahren lässt uns als das in bakteriologischer Hinsicht überlegene erscheinen". Allerdings hat Bollner bei seinen vergleichenden Untersuchungen mit beiden Verfahren nicht mit Cholera und Typhus gearbeitet.

2. Bleiben solche Platten nicht steril, so kann die auf ihnen zur Entwickelung gekommene Colonieenzahl nicht ohne Weiteres zu einem Schluss auf die Menge der vernichteten Keime dienen, denn es können solche Platten noch eine grosse Anzahl nur geschädigter Keime enthalten, welche unter günstigeren Bedingungen noch entwickelungsfähig sind; das wirkliche Reductionsverhältniss ist also nicht zu ermitteln.

3. Bleiben die Platten mit festen Nährböden steril, so ist in jedem Falle a) eine der Eigenart des zum Versuch benutzten Bacteriums entsprechende Anreicherungsmethode vor dem Plattenverfahren einzuschalten, und b) hierzu, wenn irgend möglich, die ganze zum Versuch benutzte bezw. inficirte Menge — bei Untersuchungen im grösseren Styl mindestens aber ein Quantum von einem oder einigen Litern — zu verwenden.

4. Für Untersuchungen mit Choleravibrionen ist ein Anreicherungsverfahren sehr leicht durchzuführen, weil man anstatt des nachfolgenden Plattenverfahrens direct die Cholerarothreaction benutzen kann, und daher nicht steril zu arbeiten braucht. Ein Controlversuch hat nur nachzuweisen, dass das zu den Versuchen benutzte Wasser keine Rothbildner von vornherein enthalten hat.

5. Auch für Typhus- und Ruhrbacillen ist wie bei meinen Versuchen ein Anreicherungsverfahren ohne allzu grosse Mühe durchzuführen, sobald man unter Ausschluss anderer Keime durch Sterilisation des zum Versuch dienenden Wassers u. s. w. arbeitet. Eine Erleichterung bieten noch beim nachfolgenden Plattenverfahren die erwähnten besonderen Nährböden. Zweckmässig dürfte bei der Anreicherung auch hier eine Vertheilung der zum Versuch benutzten Wassermenge in eine grössere Anzahl kleiner Kölbchen sein, um ein genaueres Urtheil über den Effect der Desinfection zu erlangen.

6. Sollen andere Bakterienarten als Versuchsobjecte dienen, so ist sinngemäss zu verfahren.

7. Jeder Versuch ist zu wiederholen.

Zuletzt möchte ich noch die Vermuthung aussprechen, dass möglicher Weise einzelne bisher als gute Desinfectionsmittel angesehene Substanzen, bezw. deren bisher übliche Concentration und Einwirkungsdauer sich bei näherer Prüfung nach den soeben aufgestellten Grundsätzen weniger zuverlässig, als bisher

geglaubt, erweisen könnten, was praktisch unter Umständen von weitragender Bedeutung sein würde. Es würden Versuche nach dieser Richtung sich wohl lohnen, so z. B. mit dem im Grossen bei der Abwässerreinigung gebrauchten Chlorkalk[1], welcher bisher als zuverlässiges Desinfectionsmittel für Trinkwasser gegolten hat und ausserdem in neuerer Zeit für die Desinfection mit Typhusbacillen inficirter Badewässer als leicht erhältliches, billiges, ungefährliches und sicher wirkendes Desinfectionsmittel empfohlen ist.[2]

---

[1] Dunbar-Zirn, Beitrag zur Frage über die Desinfection städtischer Abwässer. *Hygienische Rundschau.* 1899. S. 406. — Proskauer-Elsner, Ueber die hygienische Untersuchung des Kohlebreiverfahrens zur Reinigung von Abwässern auf der Klärstation in Potsdam. *Ebenda.* S. 461.

[2] Babucke, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1900. Bd. XXII u. XXIII. S. 800.

Zur „Erwiderung“ von H. Conradi.

Von

Dr. **M. Wilde.**

In dem mir soeben zugehenden Hefte dieser Zeitschrift (Bd. XXXVIII, Heft 3) unterzieht Conradi meine Arbeit: „Ueber das Verhalten der baktericiden Kraft des Kaninchenserums bei der Milzbrandinfection“[1] einer Kritik, welche mich zu einigen Worten der Abwehr nöthigt. Den Cardinalfehler meiner Versuche erblickt Conradi in den grösseren Einsaatziffern, welche ich bei meinen baktericiden Versuchen anwendete, was er als „eine bei einer Nachprüfung unzulässige Abweichung von der Originalarbeit“ bezeichnet. Da Conradi's eigene Arbeit[2] doch auch nur eine Nachprüfung der Resultate anderer Forscher in dieser Frage darstellt, und er selbst, wie er ausdrücklich hervorhebt, von der Versuchsanordnung seiner Vorgänger in vielen Punkten abgewichen ist, so berührt dieser Vorwurf in seinem Munde besonders merkwürdig, zumal ich meine grösseren Einsaatziffern doch ausführlich motivirt habe: was dem Einen recht ist, sollte doch auch dem Anderen billig sein. Sowohl in meiner, wie in dem betreffenden Abschnitt von Conradi's Arbeit handelte es sich um die Frage, ob das Kaninchenblut durch das massenhafte Eindringen der Milzbrandbacillen eine Abschwächung bezw. Aufhebung seines baktericiden Vermögens erfährt oder nicht. Conradi kommt auf Grund seiner Versuche zu der Ueberzeugung, dass das nicht der Fall ist, wie er denn ausdrücklich sagt[3]: Finden wir somit keine quantitativen Unterschiede zwischen den baktericiden Stoffen des Blutes gesunder und kranker Thiere“ . . ., und[4]: „Ohne nun den Resultaten späterer Untersucher vorgreifen zu wollen, welche vielleicht durch neue Methoden eine geringe Zu- oder Abnahme der Baktericidie erweisen könnten, legen wir Werth darauf, nachdrücklich hervorzuheben, dass bisher bei der Milzbrandinfection des Kaninchens keinerlei Abweichung der baktericiden Kraft des Blutes von der Norm trotz gegentheiliger Behauptungen sichergestellt ist.“ Wie Conradi da in seiner Erwiderung[5] behaupten kann, durch Fortlassen der

---

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXVII. S. 476.

[2] Baktericidie und Milzbrandinfection. *Ebenda.* Bd. XXXIV. S. 185.

[3] *Ebenda* Bd. XXXIV. S. 200.

[4] *Ebenda.* Bd. XXXIV. S. 203.

[5] A. a. O. Bd. XXXVIII. S. 413.

Worte „bei kleiner Einsaat“ habe das Citat[1] den entgegengesetzten Sinn erhalten, ist mir schlechterdings unverständlich. Zudem enthält dieser Zusatz, den Conradi bei der Formulirung seiner Resultate macht, doch eigentlich eine Contradictio in adjecto: entweder ist die baktericide Kraft des nach der Infection entzogenen Blutes ungeschwächt, dann muss sich das sowohl bei kleiner wie bei grösserer Einsaat von Milzbrandbakterien, wofern dieselbe von dem normalen Serum desselben Thieres prompt abgetödtet wird, wie das in meinen Versuchen der Fall ist, zeigen; oder das nach der Infection gewonnene Serum kann nur mehr eine geringe Menge von Bakterien vernichten, dann ist sein baktericides Vermögen eben vermindert. Um aber eine solche, vielleicht erst geringe, Verminderung der Schutzstoffe festzustellen, darf dann doch die Einsaat nicht zu klein sein, sonst wird wie im normalen Serum eine völlige Abtödtung eintreten können und so ein unveränderter Bestand an Schutzstoffen vorgetäuscht werden, wie das in manchen Versuchen Conradi's der Fall sein mag. Für mich lag somit gar kein Grund vor, an der meines Erachtens fehlerhaften Methodik Conradi's festzuhalten. Zum Ueberfluss aber habe ich in zwei Versuchen (IV und VI) kleine Einsaaten nach der Vorschrift Conradi's angewendet, doch auch hier trat in dem nach der Infection entzogenen Serum sofortige Vermehrung der eingebrachten Milzbrandbacillen ein, als Zeichen, dass in diesen Fällen das Serum sein baktericides Vermögen schon vollständig verloren hatte. Um nun grössere Einsaaten mit Sicherheit zu erhalten, war ich auf die Verwendung von Culturmaterial angewiesen, was für die Genauigkeit des baktericiden Versuches seine Vor- und Nachtheile hat, worauf ich ja ausdrücklich hingewiesen habe.

Wenn Conradi dann ferner meint, meine Einsaaten seien nicht mit der nöthigen Gleichmässigkeit vorgenommen worden, so scheint mir auch dieser Vorwurf ungerechtfertigt; Differenzen, wie sie sich in meinen Ziffern zeigen, können gelegentlich sogar bei den für baktericide Versuche geeigneten Bakterien, wie Cholera- oder Typhusbacillen, vorkommen, bei den durch ihre Wachsthumseigenthümlichkeiten für derartige Untersuchungen aber ganz ungeeigneten Milzbrandbakterien können sie nicht überraschen; auch in Conradi's Tabellen würden solche Unregelmässigkeiten in den Einsaatziffern wohl kaum fehlen, wenn er sich bemüssigt gefühlt hätte, die Einsaatziffern in die Röhrchen mit dem normalen und demnach der

---

[1] Der betreffende Passus meiner Arbeit lautete: Um aber seine Behauptung: „dass, wenn die Milzbrandbacillen sich des Kreislaufs bemächtigt haben, die baktericide Kraft... (hier fehlen die Worte: „bei kleiner Einsaat“) ungeschwächt fortbesteht“ zu beweisen, hätte Conradi in seiner zweiten Periode der Milzbrandinfection wiederholte Blutentziehungen vornehmen müssen.

Infection entzogenen Blutserum überhaupt anzugeben; so fehlt dem Leser jede Controle in den meisten seiner Versuche, ob überhaupt milzbrandbacillenhaltiges Material in die betreffenden Röhrchen hineingelangte. — Nur in einer Ausstellung hat Conradi Recht; in der Tabelle zu Versuch VI fehlt in der Columne „nach drei Stunden“ hinter der Zahl 1792 eine Null; Versuch VI und Versuch VIII fanden gleichzeitig statt und so benutzte ich zur Feststellung der relativen Einsaat dasselbe Röhrchen mit 24 Stunden inactivirtem Serum, weshalb die betreffenden Zahlen natürlich identisch sein müssen.

Dass ich in einigen Versuchen (II und IV) nur unvollständig inactivirtes Serum als Controle verwendete, lag in äusseren Gründen; in Versuch III erwies sich das $^1/_2$ Stunde, in Versuch V und IX das 3 Stunden auf 57° erwärmte Serum schon als vollständig oder doch nahezu vollständig inactiv für Milzbrandbakterien, wie die fortschreitende Vermehrung in dem betreffenden Röhrchen doch deutlich zeigt; ich glaube somit nicht, dass dadurch die Zuverlässigkeit der Resultate dieser Versuche irgendwie beeinträchtigt wird.

Da die weiteren Ausführungen Conradi's kein neues Material in unserer Frage bringen, sondern nur etwas modificirte Wiederholungen seiner früheren Behauptungen, so glaube ich, den Leser bezüglich derselben auf meine Arbeit verweisen zu dürfen. Nach meinen Erfahrungen sind die vor der Agone in dem Blute der Thiere gelegentlich auftretenden Milzbrandbacillen viel zu gering an Zahl, um eine merkbare Verminderung der Schutzstoffe hervorrufen zu können, so dass zu dieser Zeit entzogene Blutproben noch keine Abweichungen von der Norm zeigen; erst in der Agone erfolgt die Abnahme bezw. Aufhebung der baktericiden Kraft des Blutes in Folge des jetzt erst eintretenden massenhaften Eindringens der Bakterien in die Blutbahn. Was letzteren Punkt angeht, so bin ich über den jetzigen Widerspruch Conradi's um so mehr erstaunt, als unsere Beobachtungen darüber völlig übereinzustimmen schienen, wenigstens theilte uns Conradi, wie ich das schon in meiner Arbeit erwähnte, bei Gelegenheit der Uebersendung des von ihm benutzten Milzbrandstammes wörtlich Folgendes mit: „Hervorzuheben ist, dass die Einwanderung der Milzbrandbakterien in's Blut erst in der Agone (diese Worte sind im Original unterstrichen) erfolgt.“ Damit vergleiche man nun die Behauptung seiner Erwiderung: „Das Eindringen der Bakterien in die Blutbahn erfolgt somit nicht in der Agone, sondern schon vorher.“ Ein Autor, der in seinen eigenen Angaben so widersprechend ist, sollte doch in der Kritik fremder Arbeiten etwas vorsichtiger sein.

München, 10. December 1901.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Zürich.]

Beitrag
zur Züchtung und zur Biologie des Tuberkelbacillus.

Von

Hilarius Menzi,
ehemaligem Assistenten des Institutes.

Die Veranlassung zu meiner Arbeit bildete eine Publication von Med.-Rath Dr. W. Hesse in dieser Zeitschrift, betitelt: „Ein neues Verfahren zur Züchtung des Tuberkelbacillus".

In dieser Arbeit theilt der Verfasser Resultate mit, die er mit seinem neuen Nährboden gewonnen, und auf dem sich die Tuberkelbacillen mit einer bisher nicht gekannten Schnelligkeit entwickeln sollen.

Als bereits feststehende Ergebnisse werden erwähnt:

1. Jedes tuberkelbacillenhaltige Sputum enthält lebende und vermehrungsfähige Tuberkelbacillen.

2. In jedem tuberkelbacillenhaltigen Sputum können mittels des neuen Verfahrens in kurzer Zeit die Koch'schen Bacillen nachweisbar zur Vermehrung gebracht werden.

3. Nach der Ansicht des Verfassers soll das neue Verfahren in vielen Fällen dem Thierversuch überlegen sein und denselben vielfach ersetzen können.

Endlich ist Hesse der Ansicht, dass sich noch manches Neue über den Tuberkelbacillus mittels seiner Züchtungsmethode werde finden lassen.

Hier mag der Vollständigkeit halber noch die Zusammensetzung des neuen Nährbodens gegeben sein, im Uebrigen verweise ich auf die citirte Originalarbeit.

Nährstoff Heyden	5 grm
Kochsalz	5 „
Glycerin	30 „
Agar	10 „
Normallösung von Krystallsoda	5 „
Destillirtes Wasser	1000 „

Man ersieht also, dass es sich um einen Agarnährboden handelt, dem aber noch Nährstoff Heyden zugesetzt ist.

Wohl seit der Entdeckung des Koch'schen Bacillus hat dessen langsames Wachsthum auf den üblichen Nährböden mit als ein charakteristisches Merkmal für denselben gegolten. Noch in der neuesten Zeit ist dieses Merkmal sehr in den Vordergrund gestellt worden, seitdem wir aus den Arbeiten von Möller, Rabinowitsch, Tobler, Korn, Petri, Hormann und Morgenroth und Anderer wissen, dass die Säurefestigkeit, d. h. die Eigenschaft, einmal angenommene Anilinfarbstoffe selbst bei mehrminutigem Verweilen in 20 prozentiger Salpetersäure nicht wieder abzugeben, nicht ein allein dem Tuberkelbacillus zukommendes Verhalten ist, sondern dass er dasselbe mit noch einer ganzen Gruppe von Bacillen theilt. Ihre Resistenz gegen Säuren ist zwar ungleich und speciell der bei Untersuchungen von Urinsedimenten in Frage kommende Smegmabacillus lässt sich vom Koch'schen bei tüchtiger Entfärbung sehr wohl differenziren, dagegen kommen in der Milch solche säurefeste Bacillen vor, die nicht nur tinctoriell sich ganz analog dem Tuberkelbacillus verhalten, sondern die sogar im Thierexperiment durchaus ähnliche pathologische Veränderungen zu Stande bringen. Das einzige charakteristische Unterscheidungszeichen blieb immer das, dass die „Pseudotuberkelbacillen“ zur Entwickelung von ansehnlichen Culturen nur Tage brauchen, die echten Tuberkelbacillen hingegen ebenso viele Wochen.

Andererseits empfindet dieses schlechte Wachsthum jeder, der sich mit Tuberculoseuntersuchungen zu befassen hat, sehr unangenehm, denn in allen Fällen, wo wir in directen Ausstrichpräparaten die Bacillen nicht nachweisen können, aber wahrscheinlich doch ein phthisischer Process vorliegt, bleibt uns als Refugium nur noch der Thierversuch, wofür ja bekanntlich das Meerschweinchen sich sehr gut eignet. Immerhin ist der Nachtheil, dass wir von demselben erst nach mehreren Wochen ein Resultat erhalten können, gar nicht zu unterschätzen.

Wenn wir uns nach der Ursache fragen, warum denn bis jetzt in der Diagnostik der Tuberculose das Culturverfahren noch gar keine Rolle spielt, so ist dieselbe die, dass wir bis jetzt noch keinen electiven Nährboden besitzen, d. h. keinen solchen, auf dem entweder der Tuberkel-

bacillus sich so rasch wie die Begleitmikroorganismen entwickelt, oder auf dem die letzteren in ihrem Wachsthum so lange zurückgehalten würden, bis wir deutlich sichtbare Colonieen des ersteren erkennen können.

Diese Lücke nun schien der neue Agar ersetzen zu sollen, und nach den vorausgeschickten Erörterungen konnte es nicht Wunder nehmen, dass sich bald mehrere und selbst bedeutende bakteriologische Forscher mit der Nachprüfung und dem weiteren Ausbau der Hesse'schen Entdeckung befassten.

Ich will die bis zur Veröffentlichung meiner Resultate erschienenen Arbeiten, so weit sie mir wenigstens bekannt sind, kurz erwähnen.

So lieferte Jochmann bald nach dem Erscheinen der Hesse'schen Publication eine Arbeit, die im Allgemeinen jene bestätigte. Er empfand es aber unangenehm, dass bei dem Verfahren mittels Platten immer nur wenig Sputum verwendet werden konnte, und ferner wünschte er einen bedeutenderen Agarzusatz, um wenigstens ein festeres Nährsubstrat zu erzielen, als es die ursprüngliche Zusammensetzung bildet. Er empfahl dann aber, den Agar lieber ganz bei Seite zu lassen und grössere Mengen des zu untersuchenden Mediums in die mit Nährstoff Heyden versetzte Bouillon, denn eine solche war es nach Weglassen des Agarzusatzes, zu verimpfen und in diesem Gemisch dann die Tuberkelbacillen sich 24 bis 48 Stunden im Brütschrank vermehren lassen. Auf diese Weise glaubt Jochmann, dass es hier und da gelingen dürfte, die Tuberkelbacillen zu finden, wo die directe mikroskopische Untersuchung nicht genügt, zumal, wenn mit diesem neuen Verfahren noch das alte van Ketel'sche Sedimentirungsverfahren combinirt würde. Für ihn selbst ist die combinirte Methode in einigen Fällen von Erfolg gekrönt gewesen.

Auch Römer lieferte eine Arbeit, in der er die Vermehrung der Koch'schen Bacillen in der von Hesse angegebenen Weise constatirt, nur hat er die Vermehrung nicht gleichmässig beobachten können; neben deutlicher Vermehrung fand er immer solche Formen, die einzeln geblieben sind, kurz, ja sogar verkümmert aussehen. Seiner Meinung nach handelt es sich da um abgestorbene Individuen und kann er darum Hesse nicht beipflichten, der die meisten Bacillen des Sputums für lebensfähig hält. Er kommt zum Schlusse, dass nicht der von Hesse empfohlene Zusatz von Nährstoff Heyden, sondern der mit den Bacillen auf den Agar verimpfte Schleim das eigentlich wachsthumfördernde Agens ist.

Dann veröffentlichte Ficker die Resultate eingehender Untersuchungen, der die Vermehrung der Tuberkelbacillen immer dann beobachtete, wenn er sie mit Auswurf auf Hesse-Agarplatten verimpfte, dagegen war ihm das misslungen, wenn er es mit Reinculturen versuchte. Er konnte eine

ähnliche, wenn auch etwas geringere Vermehrung der Tuberkelbacillen des Sputums beim Verimpfen auf gewöhnlichen Glycerin-Agar constatiren. Das ist diesem Verfasser nun auch der Beweis, dass das verimpfte Sputum das wachsthumbefördernde Mittel ist. (Ich werde später Gelegenheit haben, auf diese Frage noch zurückzukommen.) Von dieser Ansicht ausgehend construirte er dann Sputumnährböden, und da ihn auch diese noch nicht zu befriedigen schienen, noch eine ganze Reihe anderer; ich erwähne nur seine sauren Kartoffelnährböden, dann solche, denen Proskauer'sche Salze zugesetzt waren, und endlich die am meisten empfohlenen Gehirnnährböden. Zur Anfertigung letzterer wird entweder das Gehirn in Scheiben geschnitten und diese verwendet, oder aber es wird zerdrücktes und fein zerriebenes Gehirn Agar zugesetzt, wodurch man eine opake Masse erhält, die er Gehirnagar nennt. Eine grosse Bedeutung schreibt er der sauren Reaction der Nährböden zu, während wir es beim Hesse'schen Agar mit einem alkalischen Nährsubstrat zu thun haben.

Einer Arbeit von C. Fränkel muss ich endlich noch kurz gedenken. Ihm ist es, wie übrigens auch Vagedes und Anderen schon früher hier und da gelungen, ohne Thierpassage Reinculturen von Tuberkelbacillen zu gewinnen, aber immer nur dann, wenn es sich um äusserst bacillenreiche Medien handelte, in denen zudem nur sehr spärliche Begleitmikroorganismen vorhanden waren. Für die Züchtung von Reinculturen in der gewöhnlichen Weise stellt dieser Autor den neuen Nährboden etwa auf gleiche Stufe mit dem Glycerinagar, aber unter das Glycerinserum. Auch er bestätigt Hesse's Angaben über die Anreicherung der Bacillen des Sputums und anerkennt auch den wachsthumhemmenden Einfluss des neuen Nährbodens auf Begleitmikroorganismen. Wie Ficker schreibt auch er dem Schleim eine erhebliche Bedeutung für das Wachsthum der Koch'schen Bacillen zu, im Gegensatz zu diesem aber hält er die saure Reaction der Nährböden nicht ohne Weiteres für günstig.

Wenn wir aus all diesen Arbeiten das Facit ziehen, so müssen wir sagen, dass alle den ersten und zweiten Schlusssatz der Hesse'schen Arbeit mehr oder weniger bestätigen, gerade aber über den dritten Punkt, über die Frage der Ueberlegenheit des Thierversuches, welche doch gewiss die bedeutsamste wäre, haben sich die genannten Verfasser ganz stillschweigend verhalten. Keiner, ausser vielleicht Ficker, ist wesentlich weiter gekommen als Hesse selbst. Darin liegt gewiss etwas Entmuthigendes, aber ich habe es mir doch nicht nehmen lassen, meine eigenen Untersuchungen bis zum Schlusse durchzuführen, und wenn diese auch selten den gewünschten Erfolg hatten, dürfte sich aus ihnen doch einiges Brauchbare ergeben. Auch einige nur indirect zum Hauptthema

gehörenden Fragen betreffs das morphologische Verhalten des Tuberkelbacillus, zu prüfen, bot sich mir Gelegenheit.

Wie die anderen Verfasser habe ich einerseits das Wachsthum der Bacillen im Sputum, Urinsediment u. s. w., andererseits dasjenige von Reinculturen verfolgt, dann aber habe ich noch unter den verschiedensten Bedingungen Virulenzprüfungen an Meerschweinchen gemacht.

Hesse empfahl in seiner Arbeit, sich das phthisische Sputum selber direct in eine sterile Schale (am besten eine Petri'sche Doppelschale) spucken zu lassen und unmittelbar nachher die Verimpfung auf Platten vorzunehmen. Ich habe diesen Rath absichtlich nicht immer befolgt, um mir ein Urtheil zu bilden, wie sich Sputa, die schon einige Zeit gestanden hatten, gegenüber dem neuen Nährsubstrat verhielten. In bakteriologischen Instituten erhält man ja auch die zur Untersuchung eingelieferten Sputa in den seltensten Fällen ganz frisch.

Was die Technik des Verimpfens von Schleim auf die Platten anlangt, so habe ich im Wesentlichen die von Hesse empfohlene Methode befolgt, nämlich die Platten vor dem Gebrauch gut abkühlen und erstarren lassen, da der Agar seines grossen Wassergehaltes wegen sehr weich ist. Ob das Bestreichen der Platte in radiärer, kreisförmiger oder spiraliger Form geschieht, ist natürlich völlig gleichgültig. Wenn das Bestreichen der Nährbodenoberfläche etwas vorsichtig, z. B. mit einem sterilen Wattebäuschchen vorgenommen wird, so wird dabei der Agar nicht zerrissen, und die von Jochmann empfohlene grössere Zugabe von Agar erweist sich als überflüssig. Ich halte dieselbe sogar für schädlich, da mir die Bacillen auf dem von Hesse empfohlenen Substrat stets besser gediehen, wohl weil diese Platten nicht so leicht eintrocknen. In Folge dessen sind auch bei diesem die Klatschpräparate immer viel schöner ausgefallen. Unnöthig habe ich das von Hesse empfohlene Aufdrücken der Deckgläschen mit einem sterilisirten Röhrchen gefunden, es genügt völlig, das sterilisirte Deckgläschen mit der vorher erhitzten Zange zu fassen und es zuerst nur mit einer Kante den Nährboden berühren zu lassen. Es haftet dann sofort und braucht nur noch auf die Fläche umgedrückt zu werden. Man kann in dieser Weise jeden beliebigen Punkt einstellen und hat den Vortheil, nicht zwei Instrumente verwenden zu müssen. Gleich nachdem man die Lamelle auf die Platte aufgedrückt hat, braucht man sie nur sorgfältig wieder abzuhebeln, sie trocknen zu lassen, und das Klatschpräparat ist zur Färbung und nachherigen Untersuchung fertig. Die Platten habe ich die ersten 3 bis 4 Tage in gewöhnlicher Weise in den Brütschrank gestellt und erst dann mit Gummibändern vor weiterer Austrocknung geschützt. Wenn man sie nämlich schon zu Anfang dichtet, so bildet sich immer eine grosse Menge Condenswasser, wodurch die

Platten allzuleicht mit Schimmeln inficirt werden, die auf Hesse-Agar vorzüglich gedeihen.

In dieser Weise nun habe ich die Platten immer mehrere Tage verfolgt und auch stets die Vermehrung der Tuberkelbacillen beobachtet. Nach 24 Stunden waren immer viel mehr gedoppelte Bacillen als im directen Ausstrichpräparat, das natürlich stets angefertigt wurde. Erst die folgenden Tage jedoch kam es zu einem bedeutenderen Auswachsen der Bacillen. Erst allmählich bildeten sich kleine Bakterienzöpfe, die ihrerseits wiederum gewundene, ährenförmige Ausläufer entsendeten, so dass man nach 4 bis 6 Tagen die zierlichsten mikroskopischen Bilder bekam. Aber mehr, als es bisher geschehen, muss betont werden, dass es sich nur um mikroskopisch kleine Colonieen handelte; mit blossem Auge ist es mir nie gelungen, Colonieen Koch'scher Bacillen von den nach einigen Tagen sich dort deutlich bemerkbar machenden Begleitmikroorganismen zu differenziren. Auch in den Klatschpräparaten waren im Verlauf einiger Tage die Kokken, meist Staphylokokken oder Bakterien, wie Coli, Proteus u. s. w. so vermehrt, dass sie gewissermaassen das Meer bildeten, aus dem die Koch'schen Bacillen doch nur wie kleine Eilande hervorragten. Je bacillenreicher die verwendeten Untersuchungsmaterialien (Sputum oder Urin) waren und je frischer sie zur Verarbeitung gelangten, desto schöner wurden die Tuberkelbacillencolonieen. Sputa, die schon etwas älter waren, erwiesen sich für die Verimpfung auf Platten völlig ungeeignet. Dies bedeutete aber, selbst wenn das Verfahren sonst sich für die Tuberculosediagnostik bewährt hatte, einen grossen Nachtheil, denn der praktische Arzt ist selten in der Lage, solche Untersuchungen selbst machen zu können, bis aber Sputum an eine bakteriologische Centralstelle eingesandt ist, vergehen immer im besten Falle viele Stunden. Wohl könnte man zur Verpackung ein steriles Gefäss verwenden, wie man es für die Diphtherieuntersuchungen ja auch benüzt, aber die Vermehrung der im Sputum schon vorhandenen Bacillen liesse sich nur durch complicirtere Methoden (Eisverpackung u. s. w.) hindern.

Bei der Verwendung frischen Auswurfes nun war die geringe Wucherung der Begleitmikroorganismen in den ersten 2 bis 3 Tagen auf Hesse-Agar eclatant und hierin nimmt er eine ganz besondere Stellung ein vor den sonst in Frage kommenden Nährsubstraten.

Auf gewöhnlichem Glycerin-Agar werden in 2 bis 3 Tagen Colonieen von Staphylokokken, Proteus, Bacterium coli u. s. w. bedeutend üppiger, Rinderblutserum wird gänzlich überwuchert und ebenso die von Ficker empfohlene Mischung von Hirncolatur und Agar.

Hierin liegt überhaupt das wesentlich Neue und Interessante der Entdeckung Hesse's, dass wir nun einen Nährboden besitzen, auf dem

wir einige Tage das Wachsthum der aus den menschlichen Organen (Lunge, Niere, Blase u. s. w.) stammenden Tuberkelbacillen genau verfolgen können. Der Nährboden besitzt eben einen ausgesprochen hemmenden Einfluss auf die Begleitmikroorganismen des frischen Sputums und Urins. Darum braucht auch die Vermehrung der Koch'schen Bacillen nicht einmal eine eminent rasche zu sein.

Was die Rolle des Schleims anlangt, so ist er jedenfalls das Mittel, mit dem wir gute und zuverlässige Klatschpräparate erhalten können, mit ihm bringen wir die Bacillen auf die Platte und gewinnen sie wieder in gleicher Weise zurück auf das Deckglas. Wenn wir von Reinculturen Klatschpräparate anfertigen, so fallen dieselben stets so aus, dass sie kein getreues Abbild der Vorgänge auf der Platte sind, denn es entzieht sich in diesem Falle jeder Schätzung, wie viel am Deckgläschen haften blieb, wie viel man auf der Platte zurückliess. Ich habe diese meine Ansicht über die Rolle des Schleims noch dadurch zu stützen vermocht, dass ich Bacillen mit gut gekochtem und geseihtem Gerstenschleim fein vermengte und auch so die Vermehrung beobachten konnte wie im Schleim des Sputums und des tuberculösen Urinsediments.

In anderen Fällen, wo ich das Wachsthum der in Schleim aufgeschwemmten Tuberkelbacillen auf gewöhnlichem Glycerin-Agar und auf Hesse-Agar verglich, konnte ich auf dem ersteren eine geringe Vermehrung auch beobachten, aber nicht im gleichen Grade. Es ist also sicher, dass zum Mindesten nicht der Schleim allein das wesentliche Agens bei der Anreicherung der Bacillen ist, sondern dass dem Zusatz von Nährstoff Heyden eine bedeutende Rolle zukommt.

Hesse hat uns also zum Mindesten ein Verfahren angegeben, mit welchem wir die Vermehrung der Tuberkelbacillen in den ersten Tagen verfolgen können. Das hat aber bis jetzt noch kein anderes Verfahren geleistet und auch alle von Ficker und Jochmann angegebenen Verbesserungen thun das nicht, weil eben die Ficker'schen Nährböden wieder den Nachtheil haben, dass Kokken und Bakterien jeder Art in üppigster Weise darauf gedeihen; und wenn Jochmann mittels Anreicherung in Bouillon + Nährstoff Heyden, wenn er noch das Sedimentirungsverfahren damit verband, Tuberkelbacillen nachweisen konnte, wo sie die directe Untersuchung vermissen liess, so ist doch auch hier die Möglichkeit, das Wachstum der Koch'schen Bacillen zu controliren, verloren gegangen, und Niemand weiss, wie viel des Erfolges der Anreicherung, wieviel der Sedimentirung zuzuschreiben ist.

Noch einige Bemerkungen zu der Frage, ob die meisten Bakterien des Sputums lebend oder abgestorben seien, mögen hier angefügt werden. Diese Frage ist ja praktisch eine sehr wichtige, und vielfach ist sie auch

verschieden beantwortet worden. Kitasato bekanntlich war der Ansicht, dass die meisten Tuberkelbacillen des Auswurfes schon todte Formen repräsentiren. Hesse nun behauptete, gestützt auf seine neue Beobachtung, das Gegentheil, und Römer glaubt wieder, dieser Ansicht nicht beipflichten zu dürfen, weil er auf seinen Platten oft kurze Bacillen gesehen, die keine Spur von Vermehrung erkennen liessen. Dieser letztere Schluss nun erscheint mir direct unzulässig. Wir können nach den mikroskopischen Bildern nur sagen, die meisten Bakterien des Sputums sind vermehrungsfähig, also lebend, ein Theil vermehrt sich nicht, aber ob diese nicht doch auch lebend sind, ergiebt sich daraus noch durchaus nicht.

Dass aber sicher das phthisische Sputum fast nur lebensfähige und virulente Bacillen enthält, scheint mir viel stringenter und unwiderleglicher der Thierversuch darzuthun, indem ja die Thiere auch in den Fällen erkranken, wo die Bacillen so spärlich vorhanden sind, dass wir sie unter dem Mikroskop nicht einmal nachweisen können.

Viel Mühe nun verwandte ich auf die Prüfung der Frage, ob denn wirklich das neue Verfahren das Thierexperiment zu ersetzen vermöge. Ich verwendete zunächst vier Sputa von Patienten des hiesigen Spitals, die alle an ausgesprochener Lungentuberculose litten, und die ganz frisch verarbeitet wurden. In den ersten drei Fällen waren im directen Ausstrichpräparat zahlreiche Tuberkelbacillen zu erkennen, im vierten Fall wurden mehrere Präparate vergeblich darauf durchsucht. Von jedem Falle legte ich Hesse-Agar Platten an, auf den drei ersten war die oben beschriebene Vermehrung zu finden, die vierte Platte ergab ein negatives Resultat, trotzdem ich von den verschiedensten Stellen Klatschpräparate anfertigte. Mit jedem Sputum wurden je zwei Meerschweinchen gespritzt und zwar immer das eine subcutan und das andere intraperitoneal.

Thier 1. 400 grm. Erhält 6 ccm Sputum intraperitoneal. Im directen Ausstrichpräparat zahlreiche Tuberkelbacillen. Es stirbt nach 22 Tagen, Gewicht beim Tode 269 grm. Sectionsbefund: Hochgradige Abmagerung, an der Injectionsstelle findet sich ein kleiner Abscess. Die inguinalen, retroperitonealen und retrosternalen Lymphdrüsen sind stark vergrössert, ebenso Milz und Leber. Die letztere ist mit miliaren Knötchen durchsetzt. Das Omentum ist wurstförmig verdickt. In Ausstrichpräparaten sind Tuberkelbacillen nachweisbar.

Thier 2. 350 grm. Es erhält die gleiche Menge desselben Auswurfes wie das vorige, aber subcutan. Es wird nach 60 Tagen getödtet und wiegt 345 grm. Es zeigt ein frankstückgrosses Geschwür mit eitrigem Belag und wulstigen Rändern an der Injectionsstelle. Inguinale und retrosternale Lymphdrüsen vergrössert, einzelne Erweichungsherde. Milz stark, Leber nur wenig vergrössert, beide von Knötchen durchsetzt. Omentum frei. Tuberkelbacillen konnten nachgewiesen werden.

Thier 3. 335 grm. Infection mit 6 ccm eines Bacillen in mässiger Zahl enthaltenden Sputums, intraperitoneal. Exitus am dritten Tage. Starkes Infiltrat der Bauchdecken, fibrinöse Auflagerungen auf Leber und Darmserosa. Etwas Ascites.

Thier 4. 300 grm. Wird wie das vorhergehende geimpft, aber subcutan. Exitus nach 3 Tagen. Infiltrirte Bauchdecken, blutiger Ascites. Keine Fibrinbildung.

Thier 5. 360 grm. Es erhält 6 ccm Sputum, das reichlich Tuberkelbacillen enthält, und zwar intraperitoneal. Tod nach 20 Tagen. Es wiegt nur noch 230 grm. In der Nabelgegend findet sich ein fünfcentimestückgrosser Abscess. Inguinale und retrosternale Lymphdrüsen sind bohnengross, nicht erweicht. Das Omentum ist sehr verdickt und der vorderen Bauchwand adhärent. Milz und Leber sind vergrössert. Der mikroskopische Nachweis der Tuberkelbacillen gelingt.

Thier 6. 300 grm. Gleiche Menge des gleichen Sputums wie beim vorigen Thier, aber subcutane Infection. Exitus nach 4 Tagen. Bauchdeckeninfiltrat. Ascites mit etwas Fibrinbildung.

Thier 7. 360 grm. 6 ccm Sputum intraperitoneal. In diesem Auswurf konnten in directen Präparaten Tuberkelbacillen nicht gefunden werden und ebenso wenig mittels des Hesse'schen Verfahrens. Das Thier wird nach 8 Wochen getödtet, es wiegt beim Tode 400 grm. Die Lymphdrüsen sind stark vergrössert, das Netz ist verdickt, Milz und Leber geschwellt. In Ausstrichpräparaten einzelne Tuberkelbacillen nachweisbar.

Thier 8. 320 grm. Verimpfung einer gleichen Menge desselben Sputums wie im vorigen Falle, aber subcutan. Exitus am dritten Tage. Bauchdecken infiltrirt, etwas Ascites ohne fibrinöse Abscheidungen.

Aus dieser allerdings nur kleinen Versuchsreihe geht doch als bemerkenswerthes Resultat hervor, dass gerade in demjenigen Falle, wo der Thierversuch praktisch überhaupt in Frage gekommen wäre, das heisst beim vierten Sputum, das Verfahren der Hesse-Agarplatte auch versagte. Beim Sputum Nr. 2 (Thier 3 und 4) allerdings sind beide Meerschweinchen an Peritonitis gestorben, aber in diesem Falle liessen die Tuberkelbacillen sich auch in directen Ausstrichpräparaten sehr leicht nachweisen. Also ist durch diese Versuchsserie immerhin bewiesen, dass das Plattenverfahren, wenigstens in dieser einfachen Weise geübt, an Zuverlässigkeit durchaus nicht mit dem Thierexperiment concurriren kann. Es schien mir das übrigens auch a priori nicht wahrscheinlich, denn gerade in den zweifelhaften Fällen sind höchstens ganz spärliche Tuberkelbacillen vorhanden, wir können also auf eine ganze Platte kaum einige aufimpfen, die sich nun im besten Falle jeder zu einer kleinen Colonie entwickeln. Ob wir aber diese Colonie mit unseren Klatschpräparaten gerade treffen, das bleibt vollständig dem Zufall überlassen. Beim Thierexperiment aber können wir grosse Mengen des zu untersuchenden Materials

verimpfen, mehr als wir in Hunderten von mikroskopischen Präparaten durchmustern, und kommen so zu einem ordentlich zuverlässigen Schluss, da eben ganz spärliche Mengen von Tuberkelbacillen schon ausreichen, um Meerschweinchen damit zu inficiren.

Ganz ähnlich wie beim Sputum verhält es sich mit Urinsedimenten. Wo die Bacillen in grosser Menge vorhanden sind, und diese Fälle sind ja auch nicht selten, da war die Vermehrung auf den Hesse-Agarplatten in der schönsten Weise zu constatiren, wo dagegen nur einige wenige Bacillen im directen Präparat sich finden, da gelingt es meist nicht mehr, mit Klatschpräparaten die Vermehrung zu verfolgen. Es versagt das Hesse'sche Verfahren also auch hier gerade in den Fällen, wo es zu diagnostischen Zwecken praktisch überhaupt in Frage käme. Auch die Frage, ob säurefeste Bacillen des Urinsediments echte Tuberkelbacillen oder Smegmabacillen waren, liess sich mit der Untersuchung auf Hesse-Agarplatten nicht entscheiden, da diese letzteren auf dem neuen Nährboden nicht angehen.

Dass für den Verlauf der Impftuberculose die Zahl der vorhandenen Bacillen von Wichtigkeit ist, geht daraus hervor, dass das Thier 7 nach 56 Tagen noch gelebt hat, während Thier 5 schon nach 20 und Thier 1 nach 22 Tagen der Erkrankung erlegen sind. Dass auch noch andere Momente, wie geringere oder grössere Resistenzfähigkeit der Thiere, ihr Alter, ihr Geschlecht u. s. w., dabei eine Rolle spielen können, ist selbstverständlich. Die subcutane Injectionsmethode schützt, wie man aus der ersten Versuchsserie ersieht, vor Peritonitis auch nicht mit Sicherheit, und darum habe ich mich bei meinen späteren Versuchen ausschliesslich noch der intraperitonealen Injection bedient. Niemals darf man aus einer anfänglichen Gewichtszunahme der Thiere etwa schliessen, dass dieselben gesund seien, denn die Abmagerung zeigt sich oft erst nach ein paar Wochen, je nachdem eben der Verlauf der Tuberculose ein acuter oder langsamer ist.

Nachdem ich also die von Hesse aufgestellte Behauptung, dass sein Verfahren den Thierversuch vielfach ersetzen könne, bestreiten musste, drängte sich mir die Frage auf, ob vielleicht die Virulenz der Bacillen auf dem neuen Nährboden beträchtlich gesteigert würde. Ausführlichere Virulenzprüfungen in dieser Richtung lagen nicht vor, und der Gedanke, dass man, falls die Virulenz auf der Platte sich bedeutend steigere, durch Combination des Plattenverfahrens und des Thierexperimentes zu einem rascheren Resultate gelangen könne, war nicht ohne Weiteres von der Hand zu weisen. Ich habe folgende diesbezügliche Versuche gemacht.

Thier 9. 405 grm. Eine 6 Tage alte Hesse-Agarplatte, die mit einem Sputum bestrichen worden war, in welchem in directen Ausstrichpräparaten

zahlreiche Tuberkelbacillen vorhanden gewesen waren, wird mit steriler Bouillon abgewaschen und die so gewonnene Flüssigkeit (6 ^{ccm}) diesem Thiere injicirt. Tod nach 24 Stunden. Fibrinöse Auflagerungen auf Leber und Darmserosa. Ascites und Hydrothorax.

Thier 10. 350 ^{grm}. Wurde in gleicher Weise von einer anderen gleichalten Platte geimpft und erlitt dasselbe Schicksal.

Thier 11. 380 ^{grm}. Wurde mit der Aufschwemmung einer nur 4 Tage alten Platte inficirt. Auch hier erfolgte der Exitus in Folge von acuter Peritonitis nach 24 Stunden.

Thier 12. 300 ^{grm}. Erhielt 6 ^{ccm} von dem gleichen Sputum wie Thier 9, aber hier war das Sputum einfach 6 Tage in den Brütschrank gestellt worden. Auch hier erfolgte prompt der Exitus in Folge acuter Peritonitis.

Thier 13. 260 ^{grm}. Dieses erhielt die Aufschwemmung einer 8 Tage alten Sputumcultur auf einer Hesse-Agarplatte. Dieses starb erst nach 67 Tagen (360 ^{grm}) und hier ergab die Section typische Impftuberculose. In den Bauchdecken fanden sich multiple, linsen- bis bohnengrosse Abscesse, die inguinalen Drüsen waren haselnussgross und zum Theil erweicht. Die retrosternalen und die retroperitonealen Lymphdrüsen sind nur mässig geschwellt, das Netz ist stark verdickt, die Milz ist gross, die Leber dagegen ohne Besonderheiten. Im Drüseneiter fanden sich spärliche Tuberkelbacillen.

Thier 14. 320 ^{grm}. Es erhielt dasselbe Sputum wie Thier 13, aber das Sputum war 10 Tage im Eisschrank aufbewahrt worden und wurden nun 6 ^{ccm} desselben direct intraperitoneal injicirt. Es starb schon nach 20 Tagen, wog nur noch 250 ^{grm} und die Section ergab stark vergrösserte Lymphdrüsen, die indessen nur wenig Verkäsung zeigten, und eine bedeutend geschwellte Leber und Milz. Das Omentum war frei. Tuberkelbacillen konnten mikroskopisch mit Leichtigkeit gefunden werden.

Thier 15. 340 ^{grm}. Es erhielt die Aufschwemmung einer 9 Tage alten, mit einem anderen tuberkelbacillenhaltigen Sputum geimpften Platte. Dieses Meerschweinchen starb nach 36 Tagen. Die Inguinaldrüsen waren bohnengross, theils caseificirt, die retrosternalen und retroperitonealen Drüsen, sowie Milz und Leber waren gleichfalls sehr gross. Als Nebenbefund war ein Milzinfarct zu constatiren. In Ausstrichpräparaten von Drüsen fanden sich einzelne Tuberkelbacillen.

Thier 16. 360 ^{grm}. Erhielt eine Aufschwemmung von einer stark eingetrockneten, 15 Tage alten Platte. Es gelang nicht mehr, Klatschpräparate anzufertigen, dagegen konnte man etwas Schleim abkratzen und damit ein gewöhnliches Ausstrichpräparat anfertigen. Es waren hier die Tuberkelbacillen noch leicht zu finden, dagegen zeigte eine grosse Menge derselben Polkörnchen, d. h. intensiv dunkel gefärbte Punkte an einem oder an beiden Enden. Das Meerschweinchen wurde nach 67 Tagen getödtet, es wog 510 ^{grm} und die Section ergab ganz normale Verhältnisse.

Epikritisch ist zu dieser Versuchsserie zu bemerken, dass die Begleitmikroorganismen des Sputums nach mehrtägigem Aufenthalt im Brütschrank sich in der unangenehmsten Weise bemerkbar machten. Erst

nach 8 Tagen war die Virulenz der pyogenen Kokken und Bakterien so weit geschwächt, dass die Impfthiere auf den Eingriff nicht mehr mit tödtlich verlaufender Peritonitis reagirten. In diesen Fällen nun wurden die Thiere zwar tuberculös, aber die Krankheit nahm einen ziemlich schleppenden Verlauf, das Controlthier starb viel rascher. Damit ist nun freilich nicht etwa gesagt, dass die Virulenz der Tuberkelbacillen auf der Platte abgenommen habe, denn die Vermehrung ist ja nicht so stark, dass die Zahl der einverleibten Bakterien etwa gleich gross würde wie bei der directen Injection von Sputum, wo eine ungleich grössere Menge Material zur Verfügung ist. Jedenfalls ist also die Virulenz auf den Platten noch erhalten geblieben. Aber die Hauptsache ist, dass bei dieser Combination von Plattenverfahren und Thierexperiment das Resultat nur verzögerter geworden ist, als bei der gewöhnlichen Thierimpfung. Sobald das einmal feststand, hatten für die Zwecke dieser Arbeit weitere Versuche in der angegebenen Richtung keinen Sinn mehr, und ich habe es daher unterlassen, genau festzustellen, nach wie vielen Tagen Aufenthalt im Brütschrank die Virulenz der pyogenen Kokken für das Meerschweinchen aufhört.

Interessant ist das Thier 16, weil dasselbe völlig gesund blieb, trotzdem es sicher reichliche Tuberkelbacillen einverleibt erhielt. Dieser Versuch scheint mir dafür zu sprechen, dass das Auftreten von Polkörnchen beim Koch'schen Bacillus auf geschwundene Virulenz hinweist, was um so bemerkenswerther ist, als bekanntlich beim Diphtheriebacillus gerade das positive Ausfallen der Polkörnchenfärbung für vorhandene Virulenz spricht.

In einer weiteren Versuchsreihe behufs Isolirung der Tuberkelbacillen des Sputums und des Urins habe ich die Erwärmung zu Hilfe gezogen. In der Litteratur finden sich über die obere Temperaturgrenze, bis zu welcher der Koch'sche Bacillus noch lebensfähig ist, ziemlich variirende Angaben. Manche Autoren haben angegeben, dass 80° C. und noch höhere Temperaturen zur Abtödtung nöthig seien, während die Streptokokken z. B. um 60° C. herum absterben, wenn nur diese Temperatur längere Zeit auf diese Kokken einwirken kann. Ich hoffte deshalb, dass es mir vielleicht gelingen würde, ein Temperaturoptimum zu finden, bei dem der Tuberkelbacillus noch lebens- und entwickelungsfähig wäre, bei dem aber die Begleitmikroorganismen des Sputums abstürben, oder doch so in ihren vitalen Eigenschaften geschädigt würden, dass sie auf Platten von Hesse-Agar, in Anbetracht dessen für sie entwickelungshemmenden Einflusses, nicht mehr aufkommen könnten. Leider erwies auch diese Hoffnung sich als trügerisch. Selbst bei lange dauernder Erwärmung auf 55° C. und etwas darüber gediehen die Staphylokokken

auf Hesse-Agar noch so gut wie vorher, oder aber, wenn die Temperatur auf 60° C. erhöht wurde, so kamen auch die Tuberkelbacillen auf den angelegten Platten nicht mehr zur Vermehrung. Ich habe die Untersuchungen in dieser Hinsicht etwas weiter ausgedehnt, als es ursprünglich meine Absicht war, eben weil die Angaben der Autoren hier so sehr differiren. Ich machte folgende Versuche:

Meerschweinchen 17. 320 grm. Es erhält intraperitoneal 8 ccm einer Bouillon, in der eine grosse, zahlreiche Tuberkelbacillen enthaltende Lymphdrüse eines Meerschweinchens zerquetscht worden war. Vor der Injection wurde diese Bouillon $1^1/_2$ Stunden im Wasserbad auf 50° C. erwärmt. Das Thier wurde nach 61 Tagen getödtet, es zeigte mächtig geschwellte Drüsen, das Netz war in eine wurstförmige, derbe Masse verwandelt. Es bestand ferner Lungentuberculose und Verkäsung des linken Nebenhodens. In Ausstrichpräparaten fanden sich Tuberkelbacillen.

Thier 18. 350 grm. Intraperitoneale Verimpfung einer Aufschwemmung einer 4 Wochen alten Blutserumcultur von Tuberkelbacillen nach vorheriger Erwärmung auf 60° C. während einer Stunde. Das Thier wurde nach 72 Tagen getödtet und zeigte keinerlei pathologische Veränderungen bei der Section. Die Gewichtszunahme betrug 130 grm.

Thier 19. 280 grm. Eine 8 Tage alte Hesse-Agarplatte, die mit reichlich Tuberkelbacillen enthaltendem Sputum geimpft worden war, wird mit Bouillon abgewaschen, diese eine Stunde auf 60° C. erwärmt und dann diesem Thiere eingespritzt. Das Thier wurde nach 72 Tagen getödtet, und bei der Section zeigten sich völlig normale Verhältnisse. Gewichtszunahme 160 grm.

Thier 20. 250 grm. Erhält 4 ccm eines 15 Minuten auf 70° C. erwärmten tuberculösen Sputums. Das Thier wurde nach 9 Wochen getödtet, es wog nunmehr 390 grm und erwies sich bei der Section als völlig gesund.

Thier 21. 280 grm. Erhält 4 ccm eines nur 5 Minuten lang auf 70° C. erwärmten phthisischen Sputums. Es wird ebenfalls nach 9 Wochen getödtet und wiegt nun 445 grm. Die Section ergab normale Verhältnisse.

Thier 22. 285 grm. Wird gespritzt mit 6 ccm eines tuberkelbacillenhaltigen Sputums, das 10 Minuten auf 70° C. erwärmt worden. Es starb schon am dritten Tage und bei der Section fanden sich fibrinöse Beläge auf Darm- und Leberserosa.

Thier 23. 320 grm. Es erhielt 2 ccm des zu den drei vorhergehenden Versuchen verwendeten Sputums. Es starb nach 41 Tagen und die Section ergab stark vergrösserte Lymphdrüsen, sowie ein enorm verdicktes Omentum majus. Die Leber zeigte keine Veränderungen, die Milz war mässig vergrössert. Der Bacillennachweis in den Drüsen wurde geleistet.

Thier 24. 285 grm. Intraperitoneale Injection von 5 ccm tuberkelbacillenhaltigem Sputum, das nur 5 Minuten auf 65° C. erwärmt worden war. Das Thier wurde nach 61 Tagen getödtet und ergab bei der Section ganz normale Verhältnisse.

Thier 25. 335 grm. Es erhielt 5 ccm desselben Sputums wie das vorhergehende, aber 15 Minuten auf 65° C. erwärmt. Tödtung nach 60 Tagen; die inneren Organe erwiesen sich bei der Section als völlig normal. Gewicht 460 grm.

Thier 26. 310 grm. Controlthier zu den beiden vorhergehenden, es erhielt nur 2 ccm des unerwärmten Sputums und starb nach 5 Wochen an hochgradiger Tuberculose der Lymphdrüsen, des Netzes und der Milz.

In den angestellten Versuchen erwiesen sich die Tuberkelbacillen also stets bei länger dauernder Temperatureinwirkung von 60° C. und darüber als abgestorben. Zu ganz denselben Ergebnissen kam auch der frühere Assistent des Züricher Hygiene-Instituts Dr. Glücksmann, der zahlreiche Thierversuche mit erwärmten Sputis machte, weil er hoffte, so zu einer Methode zu gelangen, um die nach der Impfung oft eintretende Peritonitis zu vermeiden. Ihm ergab sich, dass schon bei Erwärmung von 5 bis 10 Minuten auf 60 bis 65° C. die Tuberkelbacillen des Sputums regelmässig abstarben.

Smith fand ebenfalls, dass in Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung nach 5 bis 10, spätestens nach 15 bis 20 Minuten bei Erwärmung auf 60° C. die Tuberkelbacillen abgetödtet werden.

Beck hingegen, der neuerdings eine Arbeit über das Absterben der Tuberkelbacillen in erwärmter Milch geliefert hat, fand, dass hier ein halbstündiges Erhitzen auf 80° C. zur Abtödtung noch nicht ausreicht, ein Befund, der sich auch in anderen Arbeiten über dieses Thema wiederfindet.

Es geht daraus hervor, dass für die Abtödtung nicht nur die Temperatur und die Dauer ihrer Einwirkung, sondern vor Allem auch das Milieu, in dem die Erwärmung stattfindet, von der grössten Wichtigkeit ist.

Eines letzten Weges, den ich behufs Trennung der Tuberkelbacillen von den Begleitmikroorganismen versucht, möchte ich noch in Kürze gedenken.

Heymann und Anderen ist es gelungen, aus dem Darminhalt von Säuglingen bisher unbekannte Bacillen zu züchten, indem sie deren Faeces zuerst einige Zeit der Einwirkung von essigsaurer oder milchsaurer Bouillon aussetzten, und erst dann in gewöhnliche Nährböden verimpften. Auf diese Weise wurde das sonst stets Alles überwuchernde Bacterium coli ausgeschaltet und gelangten nun die sogenannten acidophilen Bakterien zur Entwickelung. Nach der Arbeit von Ficker nun, der in einer leicht sauren Reaction der Nährböden ein das Wachsthum des Tuberkelbacillus sehr begünstigendes Moment erblickte, schien es mir der Mühe werth, die oben genannte Methode auch für die Isolirung dieses Bacillus zu versuchen. Aber in $^1/_2$ bis 1 procentiger Essig- oder Milchsäurebouillon

bildete sich schon nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütschrank eine gleichmässige Trübung, die von den im Sputum stets reichlich vorhandenen und bei diesen Aciditätsgraden noch mächtig sich vermehrenden Staphylokokken herrührte. Das Sputum war nach dieser Zeit immer fein zertheilt, was beweist, dass die Kokken eine peptonisirende Eigenschaft ausübten. Wenn ich höhere Aciditätsgrade, $1^1/_2$ bis 2 Procent anwandte, so blieb die Bouillon über dem hineingeimpften Sputum klar, aber wenn dann das Sputum wieder in gewöhnliche Bouillon zurückgeimpft wurde, so entwickelten sich die Kokken doch wieder. Die Tuberkelbacillen vermehrten sich bei so hohem Aciditätsgrade in keiner Weise, auch nicht bei mehrwöchentlichem Verweilen im Brütschrank. In dem oben angegebenen Sinne verdient der Koch'sche Bacillus jedenfalls nicht das Epitheton „säureliebend“.

In zweiter Linie habe ich den von Hesse empfohlenen Nährboden untersucht auf seinen Werth für die Züchtung von Tuberkelbacillen-Reinculturen. Die Züchtung auf Platten erwies sich hier nicht als vortheilhaft, denn mittels Klatschpräparaten lässt sich hier, wo der Schleim mangelt, doch kein so getreues Bild der Vermehrung gewinnen, und andererseits hält es doch schwer, die Platten Wochen lang vor Eintrocknung und Mischinfection mit Bakterien der Luft zu schützen.

Ich habe daher fast ausschliesslich Culturen auf schräg erstarrtem Hesse-Agar gemacht. Hierbei war zu bemerken, dass der Nährboden vor dem Gebrauch mindestens einen Tag zum Erstarren brauchte, weil er sonst nachher Risse bekam. Zur Impfung habe ich entweder tuberkelbacillenhaltige Lymphdrüsen von Meerschweinchen verwendet, oder aber ich zerrieb in steriler Bouillon Culturbrocken von Koch'schen Bacillen mittels eines angerauhten Glasstabes fein und impfte diese Flüssigkeit. Es liess sich dabei nicht vermeiden, dass noch gröbere Häufchen unzerrieben blieben, aber wenn dann das Gemenge sedimentirt wurde, so ergab sich, dass in dem makroskopisch ganz klaren Milieu reichlich ganz fein zertheilte Bacillen sich fanden. Letztere Methode ist zuverlässiger als die erstere, weil es nicht immer gelingt, von einer Drüse auf dem glatten Nährboden Bacillen abzustreifen. In erster Linie lag mir daran, den neuen Nährboden mit dem Rinderblutserum zu vergleichen, in zweiter Linie, zu prüfen, ob es angezeigt sei, ihn mittels Milchsäure leicht sauer oder alkalisch zu machen. Da die Filtration sehr mühsam und zeitraubend ist, so wurde noch jeweils auf 200 ccm flüssigen Agars ein Eiweiss zugesetzt, was das Filtriren bedeutend erleichterte.

Aus einer grossen Anzahl von Beobachtungen ergab sich Folgendes. Nach ca. 8 bis 10 Tagen fing der Nährboden an, kleine, zarte, durchsichtige Colonieen zu zeitigen, die äusserst feinen Tröpfchen zu vergleichen

waren. Schon nach 16 Tagen war die Oberfläche weisslich getrübt, aber noch keine deutlichen Colonieen sichtbar, der Belag schien etwas schwächer zu sein als auf dem Controlröhrchen mit Serum. Nach 4 Wochen war das Bild ziemlich verändert. Das Condenswasser war von einem feinen Häutchen bedeckt, in seiner Tiefe waren krümelige Colonieen sichtbar, auf der Oberfläche zeigten sich neben einem festhaftenden, filzigen Belag grössere Einzelcolonieen bis zum Durchmesser von 4 bis 5 mm. Diese waren in der Mitte erhaben, bisweilen über einen Millimeter hoch. Diese Einzelcolonieen wurden um so schöner, je weniger Material ursprünglich aufgeimpft wurde und je spärlicher in Folge dessen die Colonieen waren. Gegenüber Serum ist zu bemerken, dass hier der Belag immer ein viel homogenerer war, dass dagegen einzelne Colonieen nie eine so bedeutende Entwickelung zeitigten. Ich schliesse daraus, dass eben auf Serum ein grösserer Procentsatz der aufgeimpften Bacillen zum Wachsthum gelangte und in Folge dessen hier die Colonieen dichter standen. Ich wurde in dieser Ansicht bestärkt, indem ich mehrmals auf Serum wenige Colonieen bekam und auf Hesse-Agar gar keine, wenn ich unter möglichst gleichen Bedingungen die Nährböden beschickte. Ferner war es auffallend, dass bei dem leicht angesäuerten Hesse-Agar die einzelnen Colonieen geradezu maximal wurden, d. h. bis zu 8 bis 10 mm, dass aber hier ein allgemeiner Belag ganz fehlte; hier kamen also offenbar nur einzelne wenige Keime zur Entwickelung, diese wenigen gediehen aber um so üppiger. Agar, der neutral reagirte, stand etwa in der Mitte zwischen dem saueren und dem alkalischen, sowohl was die einzelnen Colonieen, als was den Belag anbetraf. Ich möchte also aus den angeführten Gründen der alkalischen Reaction des Hesse-Agars durchaus den Vorzug geben. Was nun die saueren Gehirnnährböden Ficker's anlangt, so habe ich damit keine Versuche mit Reinculturen angestellt. Sie schienen mir übrigens bedeutende Nachtheile insofern zu bieten, als das Hirn, wenn es in Scheiben geschnitten wird, eine ausgesprochen weissliche Farbe hat, auf der die weisslichen Colonieen des Tuberkelbacillus sich unmöglich gut abheben können, selbst wenn sie sich vorzüglich darauf entwickeln, und wenn das Gehirn als Colatur zu Agar gemischt wird, so entsteht ein Nährboden, der nicht nur nicht durchsichtig, sondern nicht einmal durchscheinend ist. Die Durchsichtigkeit eines Nährbodens aber ist bekanntlich ceteris paribus eine sehr werthvolle Eigenschaft, und diese gerade besitzt der Hesse-Agar in bedeutendem Grade. Alles in Allem glaube ich, den Hesse-Agar behufs Reinzüchtung von Tuberkelbacillen dem Rinderblutserum als ebenbürtig an die Seite stellen zu dürfen. Seine Resultate erwiesen sich als günstiger als diejenigen auf Glycerin-Agar, der bekanntlich auch gar nicht schlecht sich zur Züchtung Koch'scher Bacillen eignet.

Ein Versuch, dem Rinderblutserum Nährstoff Heyden zuzufügen, misslang.

Versuchsweise setzte ich auch einmal dem Serum etwas Lackmus zu, die Tuberkelbacillen gediehen auf diesem Serum ebenso gut und entfärbten das Nährsubstrat nicht, wodurch also Säurebildung ausgeschlossen erschien.

Das Wachsthum findet nur an der Oberfläche des Hesse-Agars statt, es bedarf also auch hier zum Wachsthum des Sauerstoffes. In einem Röhrchen, in das ich in flüssigem Zustande eine bedeutende Menge Bacillen, zum Theil selbst kleine Culturbrocken, gethan hatte, untersuchte ich nach 4 Wochen solche Brocken, die sich inzwischen nicht vergrössert hatten, und fand dabei wieder in grosser Zahl Tuberkelbacillen mit ausgesprochener Polkörnchenfärbung, eine Thatsache, die mich in meiner Ansicht, dass dies auf Degeneration der Bacillen hinweist, bestärkte.

Was nun die Virulenzfrage anbelangt, so habe ich mit Reinculturen nur die zwei folgenden Thierversuche gemacht.

Meerschweinchen 27. 280 ^{grm}. Erhielt eine Aufschwemmung einer 4 Wochen alten Tuberkelbacillencultur und zwar auf Hesse-Agar gezüchtet. Das Thier starb schon nach 14 Tagen, 240 ^{grm} schwer. Die Section ergab bohnengrosse inguinale und retrosternale Lymphdrüsen. Das Omentum majus war enorm verdickt, zum Theil eine caseöse Masse, die Milz war vergrössert, die Leber zeigte miliare Knötchen. Mikroskopisch liessen sich reichlich Tuberkelbacillen nachweisen.

Thier 28. 275 ^{grm}. Erhielt eine Aufschwemmung einer 4 Wochen alten Cultur ab Serum, die vom gleichen Stamm gezüchtet war wie diejenige beim Thier Nr. 27. Dieses Thier wurde nach 20 Tagen getödtet, es wog noch 260 ^{grm}. Die inguinalen und retrosternalen Drüsen waren vergrössert, das Netz verdickt, Milz und Leber vergrössert. Eitrige Einschmelzung des Gewebes fand sich nirgends. Der Tuberkelbacillennachweis wurde mikroskopisch geliefert.

Aus diesem Versuch geht hervor, dass auf Hesse-Agar gezüchtete Tuberkelbacillen ihre Virulenz nicht einbüssen. Freilich ginge es nicht an, eine Vermehrung der Virulenz daraus ableiten zu wollen, denn dazu wäre schon eine recht grosse Versuchsserie nöthig gewesen, und zu einer solchen schien mir diese Frage nicht wichtig genug, indem wir ja bereits Verfahren besitzen, um die Virulenz eines Stammes zu steigern oder zu schwächen.

In nachstehender Tabelle findet sich noch eine summarische Zusammenstellung meiner Thierexperimente.

Tabellarische Uebersicht

Serie	Meerschweinchen	Injicirtes Material	Menge in ccm
I	1	Sputum eines Phthisikers	6
	2	dasselbe Sputum	6
	3	Sputum eines Phthisikers	6
	4	dasselbe Sputum	6
	5	Sputum eines Phthisikers	6
	6	dasselbe Sputum	6
	7	Sputum eines Phthisikers, in dem keine Bacillen gefunden wurden	6
	8	dasselbe Sputum	6
II	9	Aufschwemmung einer 6tägigen Hesse-Agarplatte	6
	10	Aufschwemmung einer 6tägigen Hesse-Agarplatte	6
	11	Aufschwemmung einer 4tägigen Hesse-Agarplatte	5
	12	Sputum wie Thier 9, aber 6 Tage im Brütschrank gestanden	6
	13	Aufschwemmung einer 8tägigen Hesse-Agarplatte	7
	14	Sputum wie Thier 13, aber 10 Tage im Brütschrank aufbewahrt	6
	15	Aufschwemmung einer 9 Tage alten Hesse-Agarcultur	8
	16	Aufschwemmung einer 15 Tage alten, stark eingetrockneten Platte	7
III	17	$1\frac{1}{2}$ Stunden auf 50° C. erwärmte Aufschwemmung einer tuberculösen Drüse	8
	18	1 Stunde auf 60° C. erwärmte Aufschwemmung einer 4 Wochen alten Serumcultur von Tuberkelbacillen	8
	19	Aufschwemmung einer 8 Tage alten Hesse-Agarplatte, 1 Stunde auf 60° C. erwärmt	7
	20	tuberculöses Sputum 15 Minuten auf 70° C. erwärmt	4
	21	tuberculöses Sputum 5 Minuten auf 70° C. erwärmt	4
	22	tuberculöses Sputum 10 Minuten auf 70° C. erwärmt	6
	23	Controlthier zu Nr. 20—22	2
	24	tuberculöses Sputum 5 Minuten auf 65° C. erwärmt	5
	25	tuberculöses Sputum 15 Minuten auf 65° C. erwärmt	5
	26	Controlthier zu Nr. 24 und 25	2
IV	27	Aufschwemmung einer 4 Wochen alten Reincultur auf Hesse-Agar	6
	28	Aufschwemmung einer 4 Wochen alten Reincultur auf Blutserum	6

der Thierversuche.

Infections-weise	Gestorben nach Tagen	Getödtet nach Tagen	Gewicht bei der Infection in grm	Gewicht beim Tode in grm	Bei der Section gefundene Krankheit	Bakteriologischer Befund
intraperiton.	22	—	400	269	Impftuberculose	Tuberkelbacillen
subcutan	—	60	350	345	„	„
intraperiton.	3	—	335	—	Peritonitis acuta	—
subcutan	3	—	300	—	„	—
intraperiton.	20	—	360	230	Impftuberculose	Tuberkelbacillen
subcutan	4	—	300	—	Peritonitis acuta	—
intraperiton.	56	—	360	400	Impftuberculose	Tuberkelbacillen
subcutan	3	—	320	—	Peritonitis acuta	—
intraperiton.	1	—	405	—	„	—
„	1	—	350	—	„	—
„	1	—	380	—	„	—
„	1	—	300	—	„	—
„	67	—	260	360	Impftuberculose	Tuberkelbacillen
„	20	—	320	250	„	„
„	36	—	340	320	„	„
„	—	67	360	510	—	—
„	—	61	320	?	Impftuberculose	Tuberkelbacillen
„	—	72	350	480	—	—
„	—	72	280	440	—	—
„	—	63	250	390	—	—
„	—	63	280	445	—	—
„	2	—	285	—	Peritonitis acuta	—
„	41	—	320	310	Impftuberculose	Tuberkelbacillen
„	—	61	285	?	—	—
„	—	60	335	460	—	—
„	35	—	310	305	Impftuberculose	Tuberkelbacillen
„	14	—	280	240	„	„
„	—	20	275	260	„	„

Die Hauptergebnisse meiner Arbeit kurz resümirend, komme ich zu den nachfolgenden Sätzen:

1. Der Hesse-Agar ist ein guter Nährboden für Reinculturen von Tuberkelbacillen und als solcher dem Rinderblutserum an die Seite zu stellen. Nach unseren Versuchen bleibt die Virulenz des Tuberkelbacillus auch nach mehrmonatlicher Züchtung auf Hesse-Agar erhalten, eine deutliche Vermehrung oder Verminderung der Virulenz konnten wir nicht feststellen.

2. Mit diesem neuen Nährboden lassen sich im Sputum die Tuberkelbacillen in wenigen Tagen bedeutend anreichern und kann man die Vermehrung schon vom ersten Tage ab verfolgen. Auch im Urinsedimente lassen sich die Tuberkelbacillen, wenn dieselben reichlich vorhanden sind, auf Hesse-Agar leicht nachweisen. Hingegen konnte ihre Weiterentwickelung bei nur spärlichem Vorkommen auf der Platte nicht verfolgt werden und bietet somit gerade für diese Fälle der Hesse-Agar keinen Vortheil vor der directen mikroskopischen Untersuchung.

3. Die Begleitmikroorganismen des Sputums und des Urins werden auf Hesse-Agar Anfangs im Wachsthum bedeutend gehemmt, aber nicht bis zum Auftreten makroskopisch sichtbarer Colonieen von Tuberkelbacillen. Wir besitzen darum nach wie vor keine andere, allgemein anwendbare, Methode zur Isolirung der Tuberkelbacillen von Begleitmikroorganismen als die Thierpassage.

4. Für die bakteriologische Diagnostik hat das neue Verfahren keine werthvollen neuen Resultate gegeben.

5. Die Tuberkelbacillen im Sputum waren nach 5 bis 15 Minuten langem Erwärmen auf 65 bis 70° C. abgetödtet, die mit dem erwärmten Material geimpften Thiere wurden nicht tuberculös. Bei $1^1/_2$ stündiger Erwärmung auf 50° C. dagegen waren die Bacillen noch virulent.

Zum Schlusse ist es mir noch eine angenehme Pflicht, meinen verehrten Lehrern, Hrn. Prof. Dr. O. Wyss und Hrn. Docenten Dr. Silberschmid, an dieser Stelle zu danken, dem Ersteren für die Ueberlassung des gesammten Materials, dem Letzteren für die Anregung zu dieser Arbeit und seinen stets bereitwilligst ertheilten Rath bei Ausführung derselben.

Litteratur-Verzeichniss.

1. Hesse, Ein neues Verfahren zur Züchtung des Tuberkelbacillus. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXI.

2. Derselbe, Zur Frage der beschleunigten Züchtung des Tuberkelbacillus. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXVIII. Nr. 8 u. 9.

3. Jochmann, Ueber ein neues Verfahren behufs rascherer Züchtung des Tuberkelbacillus. *Münchener med. Wochenschrift.* 1900. S. 782 ff.

4. Römer, Ein Beitrag zur Frage der Wachsthumsgeschwindigkeit des Tuberkelbacillus. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXVII. Nr. 20—21.

5. Fränkel, Beitrag zur Frage der Züchtung des Tuberkelbacillus. *Hygien. Rundschau.* 1900. Nr. 13.

6. Ficker, Wachsthum der Tuberkelbacillen auf sauren Gehirnnährböden. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1900.

7. Obermüller, Ueber neuere Untersuchungen über das Vorkommen echter Tuberculoseerreger in der Milch und den Milchproducten. *Hygienische Rundschau.* 1900. S. 845 ff.

8. Michaelis, Neueste Untersuchungen über Sana, Milchsterilisirung und Tuberkelbacillen in der Marktbutter. *Therapeutische Monatshefte.* 1901. S. 180 ff.

9. Beck, Experimentelle Beiträge zur Untersuchung über die Marktmilch. *Deutsche Vierteljahresschrift für öffentliche Gesundheitspflege.* 1900. S. 430.

10. Tobler, Beitrag zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen und anderen säurefesten Bacillen in der Marktbutter. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXVI.

11. Hormann und Morgenroth, Ueber Bakterienbefunde in der Butter. *Hygienische Rundschau.* 1900. S. 217.

12. Petri, Zum Nachweis der Tuberkelbacillen in Butter und Milch. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1898.

13. Korn, Weitere Beiträge zur Kenntniss der säurefesten Bakterien. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1900. Bd. XXVII.

14. Tomasczewski, Ueber das Wachsthum von Tuberkelbacillen auf kartoffelhaltigen Nährböden. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXII.

15. Smith, The thermal death-point of tubercle bacilli in milk some other fluids. *Journal of Experimental medic.* 1899. Vol. III.

[Aus dem hygienischen Institut zu Göttingen.]

Versuche über Formalindesinfection von Eisenbahnwagen.

Von

Dr. **Hans Reichenbach,**
Assistenten und Privatdocenten.

Bei der täglich wachsenden Bedeutung, welche der Formaldehyd als Desinfectionsmittel für Wohnungen gewinnt, ist es auffallend, dass seine Verwendung zur Desinfection von Eisenbahnwagen bislang kaum in Betracht gezogen zu sein scheint. Soweit ich aus der betreffenden Litteratur ersehen konnte, ist im Jahre 1897 von der Direction der österreichischen Kaiser Ferdinand-Nordbahn ein derartiger Versuch, und zwar mittels des Trillat'schen Autoclaven, angestellt.[1] Der unbefriedigende Erfolg, der mit diesem Verfahren erzielt wurde, scheint die Ursache gewesen zu sein, dass weitere Versuche in dieser Richtung nicht unternommen wurden. Ausserdem findet sich in dem „Leitfaden für Desinfectoren" von Hensgen[2] die Bemerkung, dass sich die von Springfeld angegebene Formalinkette in Verbindung mit der Hellmann'schen Desinfectionstrommel besonders gut zur Desinfection von Eisenbahnwagen eigne; es ist aber aus der Mittheilung nicht zu ersehen, ob sich dieser Hinweis auf die Ergebnisse praktischer Versuche stützt.

Bei dieser Sachlage bin ich sehr gern der Anregung meines Chefs, Hrn. Prof. v. Esmarch, gefolgt und habe festzustellen versucht, wie weit sich die Methode der Wohnungsdesinfection mit Formaldehyd auf Eisenbahnwagen anwenden lässt.

---

[1] Adolf Freund, *Die Entseuchung der Viehwagen.* („Organ für die Fortschritte des Eisenbahnwesens." 1900.)

[2] Hensgen, *Leitfaden für Desinfectoren.* Berlin 1901.

Zunächst aber war die Frage zu erörtern, ob überhaupt die bisherige Methode der Eisenbahnwagendesinfection verbesserungsfähig oder gar verbesserungsbedürftig sei. Für die Personenwagen der preussischen Staatsbahnen sind die einschlägigen Bestimmungen enthalten in den „Vorschriften über die Reinigung der zur Beförderung von Personen dienenden Fahrzeuge".[1] Die wichtigsten hier in Betracht kommenden Paragraphen sind die folgenden:

§ 6. Abs. 1. Personen-, Schlaf- und Krankenwagen, die zur Beförderung von Kranken bestellt und benutzt sind, sind vor der Wiederbenutzung zu desinficiren.

Abs. 2. In gleicher Weise sind solche Wagen zu behandeln, in denen mit ansteckender Krankheit behaftete Personen nachweislich befördert worden sind.

Abs. 5. Beim Desinficiren der Wagen ist in folgender Weise zu verfahren:

Die Fussböden, der Raum unter den Wagensitzen, die nicht polirten und nicht gestrichenen Holztheile der Sitze und die Abortsitze sind mit heisser 3 procentiger Kaliseifenlösung, die Wände, Decken, polirten und gestrichenen Holzflächen, Polsterbezüge und die aus Leder hergestellten Gegenstände dagegen mit lauwarmer 3 procentiger Kaliseifenlösung abzuwaschen und trocken zu reiben. Soweit diese Gegenstände eine solche Behandlung nicht vertragen, sind sie mit Ammoniak- und Weingeistlösung, oder in anderer zweckdienlicher Weise, erforderlichen Falls auch mit schwächerer Kaliseifenlösung, abzuwaschen.

Es kann keinem Zweifel unterliegen, dass diese Vorschriften, die offenbar das ohne Schädigung des Wagens Erreichbare darstellen, zur sicheren Desinfection nicht ausreichend sind. Auch für sie gilt das, was Flügge von der früheren Methode der Wohnungsdesinfection treffend ausführt, dass es sich im Grunde um Scheuerarbeit handelt, die ganz besonders sorgfältiger und gewissenhafter Ausführung bedarf, wenn sie den angestrebten Zweck einigermaassen sicher erreichen will. Ja, es gilt dies für Eisenbahnwagen in noch höherem Maasse als für Wohnungen, da hier in den engen Räumen noch häufiger schwer zugängliche Ecken und Winkel vorhanden sind, und da die stete Furcht vor Beschädigung der theilweise sehr kostspieligen Einrichtungsgegenstände natürlicher Weise dazu führt, dass eher zu wenig, als zu viel geschieht. Dazu kommt, dass

[1] *Eisenbahn-Verordnungsblatt.* 1898. Nr. 12.

manche Gegenstände dieser mehr mechanischen Reinigung überhaupt nicht zugänglich sind: das Abwaschen der Polster mit lauwarmer Kaliseifenlösung kann doch nur als ein schwacher Nothbehelf, als ein Beruhigungsmittel für das Publikum und das eigene Gewissen, aber nicht als eine ernsthafte Desinfectionsmethode angesehen werden.

Bei den Viehwagen liegt die Sache in einer Beziehung günstiger, weil bei ihnen eine Beschädigung nicht so leicht zu befürchten ist, und deshalb eingreifendere und damit wirksamere Desinfectionsverfahren herangezogen werden können; andererseits aber werden hier auch weit höhere Anforderungen gestellt, da die Methode auch Milzbrandsporen gewachsen sein muss.

In Preussen sind für Viehwagen zwei Verfahren in Gebrauch: ein gewöhnlich angewandtes, das nach jeder vollständigen Entladung eines Viehwagens stattzufinden hat, und ein verschärftes, das nur in Anwendung kommt „in Fällen einer wirklichen Infection des Wagens mit Rinderpest, Milzbrand, Maul- und Klauenseuche, Rotz, Schweineseuche, oder dann, wenn der dringende Verdacht einer solchen Infection besteht". Die gewöhnlich angewandte Methode besteht im Waschen der Fussböden, Decken und Wände mit einer auf mindestens 50° erhitzten Sodalauge, zu deren Herstellung wenigstens 2^{kg} Soda auf 100 Liter Wasser verwendet sind; bei der verschärften Desinfection werden ausserdem noch Fussboden, Decken und Wände mit 5procentiger Carbolsäure sorgfältig bepinselt.

Eine gewisse desinfectorische Leistung wird auch dem gewöhnlichen Verfahren nicht abzusprechen sein; die Carbolsäurebehandlung mag sogar in vielen Fällen zur Unschädlichmachung der Krankheitskeime genügen: dass aber für Milzbrandsporen beide Verfahren vollständig wirkungslos sind, bedarf keiner weiteren Auseinandersetzung. Ich möchte dahingestellt sein lassen, ob überhaupt gerade die Behandlung mit Carbolsäure das geeignetste Mittel für diesen speciellen Zweck darstellt, ob nicht Sublimat oder die von Freund[1] warm empfohlene, von Gruber[1] und Lode[1] und neuerdings von van Ermengem[2] geprüfte Chlorkalklösung besser geeignet sind: soviel jedenfalls ist sicher, dass jedes in flüssiger Form angewandte Desinfectionsmittel, auch wenn es wie die von Freund benutzte Chlorkalklösung unter Druck ausströmt, mit äusserster Sorgfalt und Gewissenhaftigkeit an jede Stelle des Wagens dirigirt werden muss, wenn es sicheren Erfolg haben soll, und dass ferner Milzbrandsporen

[1] A. a. O.

[2] Désinfection des waggons à bestiaux. *Bulletin du service de santé et de l'hygiène publique de Belgique.* Juni 1899. p. 232. — Ref. *Hygienische Rundschau.* 1900. S. 289.

gegenüber alle bisherigen chemischen Desinfectionsmittel — vielleicht mit Ausnahme des Chlorkalkes — von unsicherer Wirkung sind. Gerade diese Mängel sind es, welche unsere Aufmerksamkeit auf den Formalindampf richten, der einmal als gasförmiges Medium ohne besonderes Zuthun überallhin gelangt, und zweitens gerade gegen Milzbrandsporen eine ausgezeichnete Wirksamkeit entfaltet. Die Frage war nur, ob nicht die Nachtheile der Methode und besonders ihre geringe Tiefenwirkung ihrer Anwendung hindernd in den Weg treten würden.

Zunächst soll über die an einem Viehwagen angestellten Versuche berichtet werden. Durch das Entgegenkommen der Königlichen Eisenbahndirection zu Cassel und der Direction der Göttinger Eisenbahnwerkstätte stand mir ein bedeckter Güterwagen, der zum Transport von Rindvieh benutzt war, zur Verfügung. Der Wagen, Erfurt Nr. 4526, hatte eine Bodenfläche von ca. 15 ^{qm} und eine Höhe von 2 ^{m}, so dass also der Cubikinhalt rund 30 ^{cbm} betrug. Wahrnehmbare Undichtigkeiten waren in dem Wagen nicht vorhanden, von den beiden Schiebethüren wurde die eine von innen verklebt, die andere von aussen durch Wattestreifen, bei späteren Versuchen ebenfalls durch Verkleben, abgedichtet. Welches von beiden Verfahren vorzuziehen ist, wird wohl in den meisten Fällen Geschmackssache sein; das Verkleben ist, wie ich glaube, sicherer, und bei einiger Uebung auch keineswegs schwierig. Nur darf man nicht steifes Packpapier nehmen, das viel zu wenig Schmiegsamkeit besitzt, um sich leicht den winkeligen Dichtungsflächen anzupassen, sehr gut eignet sich dagegen ein weiches, aber ziemlich zähes Druckpapier, das ich in 10 ^{cm} breite Streifen geschnitten anwandte. Man verfährt am besten so, dass man mit einem kräftigen Pinsel zunächst die zu dichtende Fläche mit Stärkekleister bestreicht, dann das ebenfalls bestrichene Papier auflegt, und nun mit dem Kleisterpinsel andrückt. Auf diese Weise lässt sich die Dichtung ohne allzu grosse Mühe und vollkommen sicher in 30 bis 40 Minuten bewerkstelligen.

Das gegebene Testobject für Viehwagen sind Milzbrandsporen. Diese habe ich denn auch immer angewandt, daneben meistens auch noch Staphylococcus aureus, dessen Widerstandsfähigkeit gegen Formalin ich noch wesentlich höher fand, als die der Milzbrandsporen. Beide Mikroorganismen wurden an Seidenfäden angetrocknet benutzt: 2tägige, bei 37 ^{0} gehaltene Agarculturen wurden mit wenig Wasser, meistens nur mit dem im Röhrchen angesammelten Condenswasser, zu einer dicken Emulsion verrieben, damit unter der Luftpumpe Seidenfäden imprägnirt und bei niedriger Temperatur über Chlorcalcium getrocknet. Die auf diese Weise hergestellten Milzbrandsporen hielten 2 bis 3 Minuten strömenden Wasserdampf, die Staphylokokkenfäden bis zu 11 Minuten 5procentige Carbol-

säure aus. Zur Prüfung der Wachsthumsfähigkeit nach dem Versuche wurden die Fäden in Bouillonröhrchen (5 ccm) gebracht und bei 37° mindestens 5 Tage beobachtet. Nach dem vierten Tage habe ich nie mehr Wachsthum gesehen.

Von den Verdampfungsmethoden des Formalins konnte für meine Zwecke nur die Flügge'sche in Frage kommen, die ausser der Einfachheit und sicheren Wirkung noch den grossen Vorzug besitzt, dass die Dämpfe ohne Schwierigkeit in enge Oeffnungen eingeleitet werden können. Die meisten Versuche wurden mit einem von Schering bezogenen Apparate angestellt, bei einigen kam auch ein von der Göttinger Metallwaarenfabrik von H. Boie bezogener Apparat in Anwendung, dessen Gleichwerthigkeit mit dem Schering'schen durch besondere Versuche festgestellt war.

Der Wagen, der direct aus dem Betriebe kam, wurde durch gründliches Auskehren von Streu und Koth gereinigt und dann zu den folgenden Versuchen benutzt.

Versuch 1. 11. April 1901.

Temperatur im Freien: 13°. 300 ccm Formalin, 1200 ccm Wasser, 300 ccm Spiritus. Je 5 Milzbrand- (Mb.) und Staphylokokken- (St.) Fäden in Glasschälchen theils am Boden, theils in halber Höhe des Wagens. Einwirkungsdauer: 7 Stunden bei allen Versuchen.[1]

Resultat: Alles desinficirt.

Versuch 2. 16. April.

Temperatur im Freien: 9°. Derselbe Versuch wie 1, nur lagen die Fäden nicht in Glasschälchen, sondern frei im Wagen.

Resultat: Dasselbe.

Versuch 3. 18. April.

300 ccm Formalin, 1200 ccm Wasser, 320 ccm Spiritus. Je 5 Mb.- und St.-Fäden, ausserdem eine 8 mm dicke Schicht frischen Kuhkothes in einer Glasschale am Boden des Wagens.

Resultat: Die Fäden sämmtlich steril. Der Kuhkoth war nicht steril, aber wesentlich keimärmer. In einer Oese des frischen Kothes fanden sich

---

[1] Die Einwirkungsdauer von 7 Stunden wurde gewählt, weil ich zuerst in Anlehnung an die von Flügge und seinen Schülern gefundenen Zahlen arbeitete, die ebenfalls für 7stündige Einwirkung gelten. Ausserdem hat diese Zeit den Vortheil, dass sich so die Desinfection einschliesslich der Ammoniakeinleitung an einem Tage beenden lässt, so dass der Wagen nach gründlicher Auslüftung während der Nacht am nächsten Morgen wieder betriebsfertig ist. — Natürlich könnte man auch, wenn es sich für die Praxis als wünschenswerth herausstellen sollte, andere Combinationen — kleinere Formalinmengen mit längerer Einwirkung und umgekehrt — verwenden.

2800 Keime, darunter reichlich Bact. coli; nach dem Versuch enthielt der Koth in der oberen Schicht 85, in der tieferen 300 Keime, dabei kein Bact. coli.

Versuch 4. 4. Juni.

Zwischen diesem und dem vorigen Versuch hatte der Wagen 6 Wochen unbenutzt im Freien gestanden. Bei dem vorherrschend trockenen Wetter war das Holzwerk in dieser Zeit stark ausgetrocknet, die Fugen des Fussbodens, die zuerst durch Rinderkoth fest verschlossen gewesen waren, waren breiter geworden und klafften an vielen Stellen mehrere Millimeter weit. Auch in den Seitenwänden waren Ritzen und Spalten aufgetreten. Diese letzteren wurden mit Papier verklebt, die in den Seitenwänden dagegen unverändert gelassen. Temperatur: 17°. Maximum im Wagen während des Versuches: 25°. 300 ccm Formalin, 1200 ccm Wasser, 320 ccm Spiritus. Je 4 Mb.- und St.-Fäden in den Ecken des Wagens am Boden.

Resultat: Ein St.-Faden gewachsen, der nahe bei einer Spalte gelegen hatte. Der unmittelbar daneben befindliche Mb.-Faden war desinficirt.

Versuch 5. 4. Juli. (S. Fig. 1.)

Die Spalten im Fussboden waren noch wesentlich grösser geworden; besonders in der westlichen Hälfte des Wagens — er stand mit seiner Längsaxe von W nach O — waren fast zwischen allen Bohlen des Fussbodens bis zu 5 mm breite Spalten aufgetreten. Temperatur: 23°. 400 ccm Formalin, 1600 ccm Wasser, 400 ccm Spiritus. Je 4 Mb.- und St.-Fäden in den Ecken des Wagens (Nr. 1 bis 4), 2 in einer Spalte des Bodens (Nr. 5), 2 mit einer 1/2 cm hohen Schicht trockenen Mistes bedeckt (Nr. 6).

Resultat: Ein St.-Faden (Nr. 4) nicht desinficirt, ebenso der unter dem Mist befindliche. In der Fussbodenspalte St.- und Mb.-Fäden nicht desinficirt.

Fig. 1.

Die in der Spalte befindlichen Fäden hatten sich also ungünstiger verhalten, als die mit Mist bedeckten. Um nun den Einfluss der Spalten im Fussboden näher zu studiren, wurde der folgende Versuch angestellt.

Versuch 6. 8. Juli. (S. Fig. 2.)

Temperatur: 16°. Maximum im Wagen: 31°. 600 ccm Formalin, 1900 ccm Wasser, 600 ccm Spiritus. Auf eine noch lose durch trockenen Mist verschlossene Spalte werden eine Anzahl Mb.-Fäden gelegt (*a*), 8 weitere daneben in einem Abstand von 5 bis 10 cm von der Spalte (*b*). Ausserdem je ein Mb.- und St.-Faden in den Ecken des Wagens am Boden in zugedeckten Petrischalen (*c*), 2 in eine noch durch Koth fest verschlossene Spalte (*d*), 2 weitere unter eine Schicht trockenen Mistes (*e*).

Das Resultat dieses Versuches ist sehr lehrreich. Sämmtliche Fäden *a* wuchsen üppig bereits nach 16 Stunden, von *b* war einer abgetödtet, die übrigen wuchsen nach 48 Stunden. Von den Fäden bei *c* wuchsen sämmtliche St.- und ein Mb.-Faden (c_3) nach 48 Stunden, die übrigen Mb. waren desinficirt. Ebenso die Mb.-Fäden bei *d* und *e*, während die St.-Fäden hier ebenfalls zum Wachsthum kamen.

Es hatten sich also die in den geschlossenen Glasschalen befindlichen und ebenso die unter Mist und in einer geschlossenen Spalte liegenden Fäden weit günstiger verhalten, als die frei am Boden in der Nähe einer offenen Spalte liegenden; die direct auf der Spalte befindlichen zeigten überhaupt keine Verminderung ihrer Lebensfähigkeit, sondern wuchsen genau so rasch wie die Controlfäden.

Fig. 2.

Fig. 3.

Durch folgenden Versuch wurde die seitliche Ausdehnung des Einflusses der Spalte festgestellt. Ausserdem wurden in der westlichen Hälfte des Wagens, die sich bislang ungünstiger verhalten hatte als die östliche, die Fugen des Fussbodens mit Papierstreifen verklebt.

Versuch 9. 15. Juli. (S. Fig. 3.)

600 ccm Formalin, 1900 ccm Wasser, 520 ccm Spiritus. Temperatur: 22°. Ein Mb.-Faden wurde auf die Spalte gelegt (*a*), 4 andere in regelmässigen Abständen daneben (b_{1-4}). Je 8 St.- und Mb.-Fäden wurden am Boden des Wagens längs der Seitenwände vertheilt (c_{1-8}).

Resultat: Es wuchsen *a* und b_{1-3}; b_4, der in 20 cm Abstand von der Spalte gelegen hatte, war abgetödtet. Von den Fäden *c* wuchs nur ein St.-Faden bei 8, der am nächsten bei der Spalte gelegen hatte. Alles Uebrige war abgetödtet.

Um die Verhältnisse der Praxis möglichst getreu nachzuahmen, wurden zwei Versuche mit inficirtem Rinderkoth angestellt. Frischer Koth wurde mit einer Aufschwemmung der Krankheitserreger — zuerst von Hühnercholerabakterien, dann Milzbrandsporen — innig vermischt und damit je zwei Petrischalen, die eine in 1 bis 2, die andere in 3 bis 5 mm hoher Schicht gefüllt.

Versuch 8. 9. Juli.

Temperatur: 17°. Maximum: 35°. 600 ccm Formalin, 1900 ccm Wasser, 570 ccm Spiritus. Zwei Schalen mit Hühnercholerakoth, ausserdem in den vier Ecken des Wagens je ein Mb.- und St.-Faden.

Resultat: Die mit dem formalinbehandelten Koth geimpften Mäuse blieben am Leben, die Controlmaus starb nach 18 Stunden an Hühnercholera. Die Mb.-Fäden waren sämmtlich abgetödtet, die St.-Fäden sämmtlich nicht desinficirt.

Versuch 8. 13. Juli.

Temperatur: 22°. Maximum: 40°. 600 ccm Formalin, 1900 ccm Wasser, 550 ccm Spiritus. Statt mit Hühnercholera werden die Schalen diesmal mit Milzbrandsporen inficirt. Ausserdem je 6 Mb.- und St.-Fäden.

Resultat: Dasselbe wie im vorigen Versuch. Beide Kothproben erweisen sich für Mäuse unschädlich, die Controlmaus stirbt nach 30 Stunden an Milzbrand. Die Mb.-Fäden waren sämmtlich abgetödtet, von den St.-Fäden wuchsen 4.

Diese Versuche wurden, wie sich aus dem Datum ergiebt, und wie ich besonders hervorheben möchte, vor der in Versuch 9 erwähnten Verklebung der Spalten ausgeführt. Die Bedingungen waren also keineswegs günstig, was ja auch in dem grossen Procentsatz der am Leben gebliebenen St.-Fäden zum Ausdruck kommt. Am 15. Juli wurde die eine Wagenhälfte verklebt; zugleich trat regnerisches Wetter ein, das bald auch in dem nicht gedichteten Theile des Wagens die Spalten zum spontanen Verschluss brachte. Nun genügte wieder die ursprüngliche Dosis von 300 ccm fast vollständig zur Desinfection, und das änderte sich auch nicht merklich, als die Verklebung entfernt wurde. Versuch 10 und 11 geben hierüber Aufschluss.

Versuch 10. 26. Juli.

Temperatur: 21°. Maximum: 29°. 300 ccm Formalin, 1200 ccm Wasser, 320 ccm Spiritus. 6 Mb.- und 12 St.-Fäden am Boden des Wagens an den Seitenwänden entlang vertheilt.

Resultat: 1 St.-Faden gewachsen. Alles Uebrige desinficirt.

Versuch 11. 29. Juli.

Die Verklebung der Spalten entfernt. Temperatur: 16°. Formalinmenge, Anzahl und Anordnung der Fäden wie in Versuch 10.

Resultat: 2 St.-Fäden gewachsen. Alles Uebrige desinficirt.

Zur besseren Uebersicht über den Einfluss der Spalten kann die folgende Tabelle dienen:

Vers.-Nr.	Datum	Formalin-menge	Anzahl der exponirten Fäden	Gewachsen	Bemerkungen
7	9. Juli	600	8	4	Trockenes Wetter. Grosse Spalten.
8	13. „	600	12	4	desgl.
9	15. „	600	16	1	Spalten zur Hälfte verklebt. Regen
10	26. „	300	18	1	Regen. Spalten viel kleiner.
11	29. „	300	18	2	Verklebung entfernt. Spalten klein. Regen.

Die Resultate der geschilderten Versuche am Viehwagen lassen sich folgendermaassen zusammenfassen. Es gelingt mit verhältnissmässig geringen Formalinmengen (300 ccm), den Wagen zu desinficiren, so lange der Fussboden vollständig dicht ist. Und zwar genügt die angegebene Menge auch zur Desinfection so schwieriger Objecte, wie Staphylococcus pyogenes aureus. Die Wirkung wird aber wesentlich beeinträchtigt, wenn gröbere Spalten im Boden vorhanden sind. Einmal leidet die Gesammtwirkung, weil durch die Undichtigkeit eine Vermehrung der Ventilationsgrösse und damit eine Herabsetzung des Formalingehaltes der Luft hervorgerufen wird, und zweitens findet in den Spalten selbst und ihrer Umgebung eine besonders ausgiebige Verdünnung der Formalindämpfe durch die einströmende Aussenluft statt, welche an diesen Stellen die Desinfectionswirkung fast ganz aufhebt. Für die Praxis dürfte diese locale Wirkung wohl das Bedeutsamste sein, dem ersten lässt sich durch Erhöhung der Formalinmenge (auf 600 ccm) leicht begegnen, eine Desinfection der Spalten wird aber auf diese Weise schwerlich erreicht werden. Dass es thatsächlich die Verdünnung durch die einströmende Luft, und nicht etwa die schwerere Zugänglichkeit der Spalten an sich ist, welche die Desinfectionswirkung hindert, wird durch die Versuche bewiesen, wo an schwer zugänglichen Stellen, zum Theil sogar in geschlossenen Glasschalen, die Milzbrandfäden abgetödtet waren, während sie in der Spalte und in der Nähe derselben, obwohl sie offen am Boden lagen, keine Einbusse ihrer Lebenskraft erlitten hatten.

Die Frage, wie weit diese Beobachtungen den Werth des Verfahrens für die Praxis beeinflussen, ist nicht ganz leicht zu entscheiden. Ein Verkleben der Spalten ist unzweckmässig, weil man dadurch die eventuell

vorhandenen Krankheitskeime ganz der Wirkung des Desinfectionsmittels entzieht. Aber bei der Beurtheilung der Frage ist doch zu berücksichtigen, dass die Spalten erst auftraten, als der Wagen Wochen lang unbenutzt den austrocknenden Einflüssen der Witterung ausgesetzt gewesen war. Bei Wagen, welche direct aus dem Betriebe kommen, ist nicht zu befürchten, dass durch den Boden irgendwie nennenswerthe Luftmengen in das Innere eintreten, weil hier das Holzwerk so feucht ist, dass es zur Bildung grösserer Spalten überhaupt nicht kommt, und weil ferner die kleinen Fugen zwischen den einzelnen Bohlen durch die Excremente luftdicht verkittet werden. In der schwereren Zugänglichkeit dieser Fugen würde ich kein allzu grosses Hinderniss sehen, weil durch Versuch 8 bewiesen wird, dass mehrere Millimeter dicke, sehr reichlich mit Milzbrandsporen durchsetzte Kothschichten sicher desinficirt werden. Immerhin würde ich empfehlen, **auch bei dichten Fussböden die Formalindosis auf 600 ccm zu erhöhen, und ferner den Boden des Wagens und besonders die Fugen zwischen den Bohlen reichlich mit 1 pro mill. Sublimatlösung zu begiessen.** Das hätte den doppelten Vortheil, dass einmal durch die Anfeuchtung der Excremente und die Quellung des Holzes der luftdichte Verschluss befördert würde, dann aber auch, dass die Milzbrandsporen, wenn auch nicht abgetödtet, so doch in ihrer Lebensfähigkeit geschwächt würden, so dass sie der Einwirkung des Formalins leichter unterliegen. Ausserdem würde noch der erhöhte Feuchtigkeitsgehalt der Luft der Wirksamkeit des Formaldehyds zu Gute kommen. Unter dieser Voraussetzung glaube ich, dass mit der angegebenen Menge Formalin (600 ccm) Viehwagen der angegebenen Grösse sicher desinficirt werden können, sicherer jedenfalls, als mit einem anderen der zur Verfügung stehenden Mittel.

Sehr viel complicirter und weniger leicht zu beurtheilen sind die Verhältnisse bei den Personenwagen. Der widerstandsfähigste Krankheitserreger, der hier in Betracht kommt, dürfte wohl der in Auswurf eingehüllte Tuberkelbacillus sein, — wollte man also unter möglichster Anlehnung an den praktischen Fall arbeiten, so müsste man als Testobject tuberculöses Sputum benutzen. Nun lassen sich aber Tuberkelbacillen bei der langen Zeit, die zwischen dem Versuch und der Entscheidung über den Erfolg verstreichen muss, wohl zur Controle einer fertigen Methode, aber nicht dann benutzen, wenn es sich darum handelt, für ganz neue Verhältnisse Normen zu schaffen. Ich habe deshalb bei den Personenwagen für gewöhnlich den gegen Formalin widerstandsfähigsten Mikroorganismus, den Staphylococcus pyogenes aureus, benutzt und die Desinfection erst dann als sicher gelungen angesehen, wenn dieser abgetödtet wurde. Durch besondere Controlversuche liess sich nachweisen,

dass der tuberculöse Auswurf weit weniger widerstandsfähig gegen Formalin ist, als der Staphylococcus, dass also, wenn dieser vernichtet wurde, auch das Sputum sicher unschädlich gemacht wurde.

Zunächst wurde ein Wagen vierter Classe benutzt. Die Bodenfläche desselben betrug 21.3 ^{qm}, der Inhalt also bei einer durchschnittlichen Höhe von 2·1 ^{m} rund 45 ^{cbm}. Die nebenstehende Fig. 4 giebt eine Skizze des Grundrisses. *ff* sind Fenster, *tt* Thüren und *o* der eiserne Ofen. Ein Drittel des Wagens war durch eine, mit einer Thür versehene Scheidewand abgetheilt, in der Oeffnung dieser Thür wurde der Apparat aufgestellt, nachdem sich dieser Platz als der günstigste herausgestellt hatte. Die Abdichtung des Wagens wurde nur so weit vorgenommen, wie sie sich ohne allzu grossen Zeitverlust ausführen liess: Auf die Dichtung der an den beiden Kopfenden des Wagens befindlichen, übrigens gut schliessenden Thüren wurde deshalb verzichtet. Die Fenster wurden mit Wattestreifen gedichtet, die Ventilationsschieber, soweit sie gröbere Undichtigkeiten erkennen liessen, mit Papier überklebt, die anderen einfach geschlossen. Der Ofen und zwei senkrecht angeordnete Ventilationsschächte wurden mit Watte verstopft. Im Ganzen wurden mit diesem Wagen 10 Versuche angestellt, wobei 63 Staphylokokken- und 68 Milzbrandfäden exponirt wurden. Die sichere Desinfection wurde erreicht bei 500 ^{ccm} Formalin, 1500 ^{ccm} Wasser und 400 ^{ccm} Spiritus und 7 stündiger Einwirkung, Tuberkelbacillen wurden schon mit 450 ^{ccm} und 3 stündiger Einwirkung unschädlich gemacht. Da dieser Versuch in der Reparaturwerkstätte stattgefunden hatte und die Möglichkeit nicht ausgeschlossen war, dass im Freien durch stärkeren Luftwechsel das Resultat ungünstiger ausfallen könnte, wurde noch ein Versuch im Freien und zwar bei lebhaftem Winde angestellt. Der Sicherheit wegen wurden diesmal 100 ^{ccm} mehr, also 600 genommen. Auch hier waren alle Proben, darunter zwei mit tuberculösem Sputum, abgetödtet.

Fig. 4.

Wenn demnach die bisherigen Versuche an ganzen Wagen durchaus befriedigende Resultate gegeben hatten, so war die Enttäuschung um so grösser, als ich mich nun an die Desinfection einzelner Coupés begab. Da hier die Aufstellung des Apparates im Innern des Wagens der Feuersgefahr wegen nicht zulässig erschien, musste der Dampf von aussen durch einen Schlauch eingeleitet werden. Am bequemsten lässt sich dazu die

Oeffnung benutzen, welche nach Herausnahme des unteren Verschlussgriffes entsteht: sie ist so gross, dass ein passendes Glasrohr bequem durchgeführt werden kann. Die Spiritusmengen müssen bei dieser Anordnung wegen der Condensation im Schlauch im Allgemeinen etwas grösser genommen werden, als bei directer Verdampfung. Auch lassen sich die Versuche nur schwer im Freien ausführen, da der Apparat bei Zugluft sehr unruhig brennt. Die folgenden Versuche sind deshalb sämmtlich in der Reparaturwerkstätte ausgeführt.

Zu den ersten Versuchen wurde ein Doppelcoupé dritter Classe benutzt, das in nebenstehender Fig. 5 im Querschnitt und in Fig. 6 im Grundriss gezeichnet ist. Der Raum zwischen der Decke und der die beiden Einzelabtheilungen trennenden Zwischenwand betrug 54 cm.

Thüren und Fenster wurden mit Wattestreifen gedichtet, die Ventilationsschieber geschlossen.

Versuch I. 27. April. (S. Fig. 5.)

Temperatur: 13°. **Maximum:** 16°. 200 ccm Formalin, 800 ccm Wasser, 200 ccm Spiritus. In I eingeleitet. Einwirkung wie bei allen späteren Versuchen 7 Stunden, darnach Einleitung von Ammoniak. Je ein Mb.- und St.-Faden werden an die mit Zahlen bezeichneten Stellen gelegt, 1 und 4 auf die Bänke, 2 und 5 auf den Fussboden, so weit wie möglich unter die Sitze geschoben, 3 und 6 in die Gepäcknetze und 7 und 8 in Papier eingewickelt hinter die an der Wand befindlichen, mit Kundgebungen der Eisenbahn - Verwaltung bedruckten Papptafeln.

Fig. 5.

Resultat: Es wuchsen Nr. 1 St., 2 St., 7 Mb., 8 St. und Mb.

Mit ähnlicher Anordnung wurden fünf weitere Versuche bei allmählich steigenden Formalindosen angestellt. Bei 300 ccm wurden sämmtliche Mb.-Fäden abgetödtet, bei 600 ccm auch die St.-Fäden im rechten Coupé, in welches der Dampf eingeleitet wurde, im linken wuchsen noch 2 St.-Fäden unter den Sitzen.

Während es bei den ersten Versuchen schien, als ob die Desinfectionswirkung in der zuerst behandelten Hälfte des Doppelcoupés nicht intensiver wäre, als in der anderen, wohin die Dämpfe erst über die Scheidewand gelangen mussten, waren die letzten doch entschieden zu Gunsten der zuerst behandelten Hälfte ausgefallen. Es wurde deshalb von nun an in jede Abtheilung die Hälfte der ganzen Menge eingeleitet, um dadurch eine bessere Vertheilung des Formaldehyds zu erzielen. Das Umsetzen

des brennenden Apparates verlief ohne Schwierigkeit, man muss allerdings, während man den Schlauch von einem Coupé in's andere bringt, den Kessel vom Feuer nehmen, um nicht von dem ausströmenden Dampf belästigt zu werden. Will man den Apparat nicht brennend verschieben, so kann man ihn auch durch Auflegen eines entsprechend grossen Blechstückes leicht auslöschen oder aber ihn von vornherein mitten zwischen beide Coupés stellen, so dass man nur den Schlauch umzustecken braucht; dann würde allerdings wegen der vermehrten Condensation in der längeren Schlauchleitung etwas mehr Spiritus nöthig werden.

Versuch 7. 17. Mai. (S. Fig. 6.)

600 ccm Formalin, 1400 ccm Wasser, 450 ccm Spiritus. Temperatur: 17°. Maximum: 23°. Je 1 Mb.- und St.-Faden in den vier Ecken jeder Coupéhälfte unter den Sitzen. Dampf zuerst in I eingeleitet.

Resultat: St. 1 bis 4 gewachsen. Alles Uebrige abgetödtet.

Fig. 6.

Versuch 8. 20. Mai.

Da der Rückstand im Kessel beim vorigen Versuch sehr beträchtlich gewesen war, wurde diesmal mehr Spiritus (520 ccm) genommen. Im Uebrigen dieselbe Anordnung, aber zuerst in II eingeleitet.

Resultat: Alles desinficirt.

Versuch 9. 7. Juni.

Temperatur: 20°. Maximum: 22°. Anordnung wie bei 7, zuerst in II eingeleitet.

Resultat: Alles desinficirt.

Versuch 10. 10. Juni.

Temperatur: 20°. Maximum: 27°. Anordnung wie bei 7, zuerst in I eingeleitet.

Resultat: St. Nr. 6 gewachsen.

Versuch 11. 13. Juni.

Temperatur: 15°. Maximum: 19°. 700 ccm Formalin, 1300 ccm Wasser, 540 ccm Spiritus. Je 12 Mb.- und St.-Fäden in den Ecken und unmittelbar an der Thürspalte. Zuerst in I eingeleitet.

Resultat: Alles desinficirt.

In den letzten Versuchen war also mit 600 und 700 ^{ccm} Formalin jedes Mal volle Desinfectionswirkung erzielt worden, mit Ausnahme von Nr. 10, wo ein Faden zum Wachsthum kam. Wollte man für diese geringfügige Abweichung nach Gründen suchen, so glaube ich nicht, dass es sich hier um einen besonders widerstandsfähigen Faden gehandelt hat, — mein Testmaterial, das ich jedes Mal an Carbolsäurelösungen prüfte, erwies sich dabei immer als vollständig gleichmässig. Eher möchte ich den Grund in einer zufälligen Veränderung der Ausströmungsrichtung des Dampfes suchen. Gewöhnlich wurde das Glasrohr so eingesetzt, dass der Dampfstrahl schräg nach vorn und rechts auf den Boden gerichtet war. Er breitete sich dann zunächst unter der hinteren Hälfte des rechten Sitzes aus und gelangte circulirend unter den linken und von da unter die vordere Hälfte des rechten Sitzes. Die Ecken des Coupés wurden also in der Reihenfolge der Zahlen 1 bis 4 getroffen (s. Fig. 7). Thatsächlich geht auch aus den Versuchsresultaten hervor, dass die rechte vordere Ecke in Bezug auf die Desinfectionswirkung die ungünstigste war, und dass die linke vordere zunächst hinter ihr rangirte. Es ist nun leicht zu verstehen, wie eine Aenderung in der Ausströmungsrichtung auch die Desinfectionsleistung beeinflussen kann, und wie besonders eine Verschiebung des Strahles nach oben sein Hingelangen unter die Sitze erschweren muss.

Dieser Einfluss liess sich besonders deutlich an einem einzelnen Coupé dritter Classe nachweisen, da bei dem zuerst untersuchten Doppelcoupé die Verhältnisse doch complicirter liegen.

Versuch 1. 19. Juli. Einzelcoupé dritter Classe. (S. Fig. 7.)

500 ^{ccm} Formalin, 2000 ^{ccm} Wasser, 620 ^{ccm} Spiritus. Temperatur: 22°. Maximum: 35°. Je ein Mb.- und St.-Faden (Nr. 1 bis 4) in den vier Ecken des Coupés unter den Sitzen. Der Dampfstrahl wurde nur wenig gegen den Boden geneigt, nahezu horizontal, eingeleitet.

Resultat: Es wuchsen bei 4, also in der ungünstigsten Ecke, der Mb.- und der St.-Faden, bei 3 nur der St.-Faden, alles Uebrige war abgetödtet.

Am 23. Juli wurde der Versuch unter denselben Bedingungen wiederholt, mit der einzigen Abänderung, dass jetzt der Strahl mehr gegen den Boden gerichtet wurde. Dieses Mal waren sämmtliche Proben vernichtet.

Am 25. Juli derselbe Versuch mit 300 ^{ccm} Formalin, 1200 ^{ccm} Wasser, 350 ^{ccm} Spiritus. Von 8 Mb.- und 12 St.-Fäden, die am Boden des Wagens vertheilt waren, wuchs der in der Ecke Nr. 3 (s. Fig. 7) befindliche.

Fig. 7.

Bei einem weiteren Versuche am 1. August, bei dem nur 200 ^{ccm} Formalin verwendet wurden, war wieder Alles abgetödtet. Der Dampfstrahl war hier vielleicht noch etwas mehr gegen den Boden gerichtet.

Nach dem Ausfall dieser Versuche würde ich 300 ccm Formalin als die zur sicheren Desinfection eines einfachen Coupés dritter Classe erforderliche Dosis bezeichnen; noch weiter mit der Formalinmenge herunterzugehen, dürfte sich nicht empfehlen, da eine geringe Aenderung in der Ausströmungsrichtung des Dampfes den Erfolg unsicher machen kann.

Noch weit ungünstiger, als in der dritten, liegen die Verhältnisse in den gepolsterten Coupés der ersten und zweiten Classe. Hier wird durch die Dicke der Sitzpolster der Raum unter den Bänken noch viel unzugänglicher, und ferner werden durch die Polster selbst mit ihren zahlreichen Falten mannigfaltige schwer erreichbare Schlupfwinkel geschaffen. Dazu kommt noch, dass durch das Material der Polster selbst, welches reichlich Wasserdampf absorbirt, die Desinfectionswirkung beeinträchtigt wird.

An einem Coupé zweiter Classe wurden im Ganzen 12 Versuche angestellt, deren Anordnung im Allgemeinen der bei der dritten Classe näher geschilderten entsprach. Zunächst wurde das Coupé, ohne dass die Polster aus ihrer gewöhnlichen Stellung entfernt wurden, mit allmählich steigenden Formalindosen behandelt. Dabei gelang es nicht, eine volle Desinfectionswirkung zu erzielen, auch nicht, als die Formalinmenge auf 1 Liter gesteigert wurde. Als Beispiel sei der achte Versuch angeführt.

Versuch 8. 20. Juni.

Temperatur: 19°. Maximum: 31°. Je 10 Fäden mit Milzbrand, Staphylokokken und Diphtherie werden auf dem Fussboden vertheilt, je 2 ausserdem zwischen die Polster des Sitzes und der Rückenlehne geschoben, so tief, dass sie gerade noch zu sehen waren.

Das Resultat war sehr instructiv: Am Boden wuchsen bei 1 und 8 nur die St.-Fäden, alles Uebrige war abgetödtet. Dagegen war von den 6 in den Polstern verborgenen nur ein Diphtheriefaden vernichtet. So hatte selbst die enorme Dosis von 1 Liter Formalin, d. h. über 200 ccm pro Cubikmeter, nicht ausgereicht, in den Polstern Diphtheriebacillen sicher zu vernichten.

Es lag nun nahe, zu versuchen, ob nicht durch Hervorziehen der Polster die schwer zugänglichen Stellen besser mit dem Desinfectionsmittel in Berührung gebracht werden könnten. Allerdings war von vornherein anzunehmen, dass dadurch der Raum unter den Sitzen noch ungünstiger gestellt werden würde, als bisher.

Das war auch in der That der Fall. Ein Versuch am 28. Juni verlief folgendermaassen:

Versuch 11. 28. Juni.

Temperatur: 17°. Maximum: 26°. 1000 ccm Formalin, 2000 ccm Wasser, 750 ccm Spiritus. Die Polster wurden soweit vorgezogen, dass die Spalten zwischen Sitz und Rückenlehne gut zugänglich wurden. Der Abstand der vorderen Sitzkanten betrug dabei 23 cm. Natürlich bleiben aber in den unbeweglichen Theilen der Polster, besonders an den Armlehnen, und auch an den in der Mitte der Sitze angebrachten beweglichen Zwischenstücken doch noch genug schwer zugängliche Stellen übrig. Auf diese wurde bei der Vertheilung der Fäden besonders Rücksicht genommen. Als Testobjecte dienten wieder Mb.-, St.- und Diphtheriefäden, von denen je 4 am Boden in den äussersten Ecken und weitere 4 zwischen den Polstern vertheilt wurden. Die Einwirkungsdauer betrug diesmal 24 Stunden.

Das Resultat war, dass sämmtliche St.-Fäden wuchsen, sämmtliche Mb.- und Diphtheriefäden abgetödtet wurden.

Mit diesem Versuche dürfte so ziemlich das erreicht sein, was sich bei Coupés mit Plüschpolstern der gebräuchlichen Art überhaupt erreichen lässt. Schon bei diesem Versuch waren die polirten Holztheile leicht angelaufen, trotzdem habe ich ihn noch einmal mit derselben Formalin-, aber grösserer Wassermenge wiederholt. Das Resultat war genau dasselbe: sämmtliche Mb.- und D.-Fäden abgetödtet, sämmtliche St.-Fäden, diesmal mit einer Ausnahme, am Leben. Die Holztheile hatten aber diesmal in der Politur so stark gelitten, dass ein Nachpoliren nöthig wurde.[1]

Andererseits glaube ich aber, dass man mit den erreichten Resultaten zufrieden sein kann. Gerade der Umstand, dass in diesen letzten Versuchen mit 24 stündiger Einwirkung nur die Staphylokokken am Leben blieben, während die übrigen Bakterien sämmtlich vernichtet wurden, deutet doch auf eine genügend gleichmässige Vertheilung des Formalins hin, so dass man annehmen darf, dass überall dahin, wo Infectionserreger hingelangen, auch Formaldehyddämpfe in wirksamer Concentration hinkommen können. Die Frage ist nur, ob man überhaupt die Abtödtung der Staphylokokken verlangen soll. Genaue vergleichende Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit der einzelnen Mikroorganismen gegen Formalin liegen noch nicht vor, die Angaben darüber, die sich in der Litteratur finden, sind theilweise einander widersprechend: nach meinen Erfahrungen aber stellen an Seidenfäden angetrocknete, nicht über 4 Wochen

[1] Im Uebrigen wurden keine Schädigungen beobachtet, obwohl die Wagen und die Coupés einer grossen Anzahl von Versuchen hinter einander unterworfen wurden. Auch der Geruch wurde durch die Ammoniakeinleitung, die bei den Coupés jedes Mal angewandt wurde, und durch nachherige gründlich Lüftung vollständig beseitigt. Doch ist es vortheilhaft, in der zweiten Classe das Ammoniak länger als gewöhnlich, am besten die Nacht durch, einwirken zu lassen.

alte Staphylokokken von allen hier in Betracht kommenden Objecten das widerstandsfähigste Material dar.[1] An zweiter Stelle dürften wohl die Milzbrandsporen stehen, während Tuberkelbacillen und Diphtherie viel leichter zu vernichten sind. Es liegt also schon in der Anwendung der Mb.-Sporen ein gewisser Sicherheitsfactor, die Abtödtung der Staphylokokken wird, wenn sie gelingt, als eine willkommene Erhöhung der Sicherheit gelten können, wenn sie aber nicht möglich ist, das Verfahren darum nicht werthlos erscheinen lassen.

Ich möchte nicht unerwähnt lassen, dass ich zuerst, als mir nach den Erfahrungen an den Coupés dritter Classe die Desinfection des Bodens unter den Sitzen am schwierigsten schien, versucht habe, den Dampfstrahl direct dorthin zu leiten. Zu dem Zweck wurden durch die Seitenwand des Wagens unterhalb der Sitze an beiden Seiten rechts und links je ein Loch gebohrt, durch welches sich das Ausströmungsrohr durchschieben liess. Thatsächlich gelang es auf diese Weise, mit 600 ^{ccm} Formalin, von denen je 300 unter jeden Sitz geleitet wurden, eine sichere Desinfection des Fussbodens zu erreichen, aber die Wirkung auf die Polster war noch ungünstiger als bei der Einleitung durch das Drückerloch. Ich habe deshalb auf diese Art der Anwendung wieder verzichtet, da entschieden die Desinfection der Polster die schwierigste Aufgabe ist. Es dürfte deshalb auch nicht viel Aussicht auf Erfolg haben, wenn man versuchen wollte, durch andere Gestaltung des Ausströmungsrohres den Dampfstrahl unmittelbar unter die Sitze zu dirigiren. Das könnte höchstens für die Coupés dritter Classe eine kleine Ersparniss an Formalin bedeuten, die aber durch die grössere Complicirtheit des Verfahrens sicher wieder ausgeglichen würde.

Wenn wir uns nun zum Schlusse die Frage vorlegen, ob nach diesen Resultaten die Einführung des Verfahrens in die Praxis möglich erscheint, so glaube ich, für die Viehwagen dieselbe bejahen zu können. Es würde allerdings noch einer grösseren Anzahl von Versuchen, die an frisch benutzten, womöglich mit Milzbrand inficirten Wagen anzustellen wären, bedürfen, um das hier im Experiment Gefundene für die Praxis sicher zu stellen, aber es scheint mir unzweifelhaft, dass sich solche Versuche lohnen würden. Eine gründliche Reinigung der Wagen von Streu und Koth würde aber auch dieser Desinfectionsmethode vorauszugehen haben, und für die Beseitigung und Unschädlich-

[1] Dieselbe Beobachtung haben Abba und Rondelli gemacht (*Centralblatt f. Bakteriologie*, Bd. XXVIII, Nr. 12/13), während die meisten anderen Autoren die Milzbrandsporen widerstandsfähiger fanden. Der Grund für diesen Widerspruch dürfte wohl in dem verschiedenen Verhalten der benutzten Staphylokokkenstämme liegen.

machung der Abfälle würden nach wie vor besondere Maassregeln zu treffen sein.

Die Kosten für eine Desinfection würden sich folgendermaassen berechnen:

600 ccm = 650 grm Formalin	91 Pf.
450 ccm Spiritus	15 „
Kleb- und Dichtungsmaterial . . .	4 „
	110 Pf.

Eine nachträgliche Behandlung mit Ammoniak erwies sich bei den Viehwagen als unnöthig, da der Geruch des Formalins, nachdem der Wagen über Nacht offen gestanden hatte, am anderen Morgen nicht mehr wahrzunehmen war.

Nun lässt sich aber das Verfahren nur bei geschlossenen Wagen anwenden; die offenen Lattenwagen, wie sie häufig zum Transport von Kleinvieh und Geflügel angewandt werden, sind auf diese Weise nicht zu desinficiren. Aber ich glaube doch, dass, wenn man an die Erprobung in der Praxis denken sollte, es der Ueberlegung werth wäre, ob nicht an einzelnen Stationen für diese Wagen geeignete Hallen, am besten wohl aus Wellblech, gebaut werden könnten, in denen die Wagen durch eingeleitete Formalindämpfe zu desinficiren wären. Man würde solche Schuppen leicht nahezu luftdicht herstellen können, und wenn sie nicht grösser gebaut werden, als gerade den Dimensionen des Wagens entspricht, so würde auch ihr Rauminhalt und damit die nöthige Formalinmenge nicht viel grösser ausfallen als bei geschlossenen Wagen. Wahrscheinlich würde sich auch bei einer solchen stationären Anlage zum Verdampfen des Formalins der wohl immer vorhandene, gespannte Kesseldampf benutzen und dadurch eine weitere Ersparniss an Kosten erzielen lassen.

Nicht so leicht ist die Frage bei den Personenwagen zu beantworten. Für die Wagen vierter Classe, bei denen keine unzugänglichen Winkel vorhanden sind, möchte ich das Formalinverfahren geradezu als Ideal bezeichnen. Es ist hier ebenso sicher und bequem, ja, wegen der Möglichkeit, den Wagen leicht vollständig dicht machen zu können, noch bequemer als bei der Wohnungsdesinfection.

Die Kosten sind hier etwa 30 Pf. höher als bei den Viehwagen, da zur Beseitigung des Geruches die Einleitung von Ammoniak nöthig ist.

Dagegen lässt sich nicht leugnen, dass die für die Desinfection einzelner Coupés erforderliche Menge (600 ccm für ein doppeltes, 300 ccm für ein einfaches Coupé dritter, und 1000 ccm für ein Coupé zweiter

Classe) unverhältnissmässig hoch sind. Aber bei der praktischen Beurtheilung der Versuche muss man in Betracht ziehen, dass eine sichere Desinfection — besonders der Polster — auf andere Weise überhaupt nicht zu erzielen ist. Wenn es sich also darum handelt, auf jeden Fall eine sichere Vernichtung der Krankheitskeime zu erreichen, und besonders dann, wenn die mechanische Desinfection mit Gefahr für den Ausführenden verbunden ist (z. B. bei Pest oder Pocken), wird man doch vielleicht mit Nutzen von dem Formalinverfahren Gebrauch machen können.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Kiel.]

Zur Aetiologie der sogenannten Fleischvergiftungen.

Von

Prof. Dr. **Bernhard Fischer.**

(Hierzu Taf. VI u. VII.)

Unter den Erkrankungen, die auf den Genuss gesundheitsschädlichen Fleisches zu beziehen sind, kommt, wenn wir von den durch finniges bezw. trichinöses Fleisch veranlassten absehen, bei uns eigentlich nur den Fleischvergiftungen eine grössere praktische Bedeutung zu. Erkrankungen des Menschen in Folge Genusses des Fleisches von Thieren, die mit Milzbrand, Rotz, Wuth, Tuberculose, Aktinomykose oder Maul- und Klauenseuche behaftet sind, hat man theils überhaupt noch nicht mit Sicherheit beobachtet, theils doch nur in äusserst seltenen Fällen. Ebenso scheinen Gesundheitsschädigungen durch in Zersetzung befindliches Fleisch, soweit sie nicht durch dieselben Schädlichkeiten bedingt sind, wie die Fleischvergiftungen, zu den Seltenheiten zu gehören, und Gesundheitsschädigungen durch das Fleisch vergifteter bezw. mit Medicamenten behandelter Thiere, von denen man früher glaubte, dass sie zuweilen vorkommen, werden nach den Ergebnissen entsprechender Laboratoriumsversuche heutzutage mit Recht angezweifelt.

Bei den Fleischvergiftungen unterscheidet man neuerdings streng zwischen den Fleischvergiftungen im engeren Sinne und der Wurstvergiftung (Botulismus, Allantiasis). Als Wurstvergiftung hat man die letztere deshalb bezeichnet, weil man sie zuerst nach dem Genusse gewisser Eingeweidewürste hat entstehen sehen.

Aber auch Fleisch in den verschiedensten Formen der Zubereitung bezw. Conservirung, das Fleisch der gewöhnlichen Schlachtthiere ebensowohl wie dasjenige von Wild, Geflügel und Fischen hat, wie sich weiterhin herausstellte, schon gelegentlich Botulismus veranlasst. In allen Fällen nun, in denen es gelang, über die Herkunft derartigen Fleisches Genaueres in Erfahrung zu bringen, stammte dasselbe von gesunden Thieren. Sogleich nach dem Schlachten erwies es sich als unschädlich, erst im Laufe der Zeit, und zwar anscheinend begünstigt durch unzweckmässige Aufbewahrung, mangelhafte Zubereitung bezw. ungenügende Conservirung nahm ein Theil desselben giftige Eigenschaften an.

Frühestens 12 bis 24 Stunden nach dem Genuss solcher giftigen Fleischwaaren beginnt die Erkrankung, die nicht selten durch bald wieder vorübergehendes Erbrechen, Magenschmerzen u. s. w. eingeleitet wird und ohne Fieber, Sensibilitätsstörungen und Trübungen des Bewusstseins verläuft. Charakteristisch sind Lähmungen im Gebiete der die äusseren und inneren Augenmuskeln, den Schlund und Kehlkopf versorgenden Nerven, die sich in der Form von Seh- und Sprachstörungen, Schlingbeschwerden, Gefühl von Trockenheit im Halse u. s. w. zu erkennen geben. Hartnäckige Stuhl- und Urinverhaltung folgen regelmässig und hinzutretende Störungen der Athmung und Herzthätigkeit führen bei einem nicht geringen Procentsatz unter den Erscheinungen der Bulbärparalyse zum Tode. So betrug die Mortalität bei den zuerst bekannt gewordenen Wurstvergiftungen 30 bis 50 Procent, und starben bei einer im December 1895 in Ellezelles im Hennegau vorgekommenen, durch einen Schinken veranlassten Vergiftung von 20 Erkrankten 3, was einer Mortalität von 15 Procent entspricht.

Wie van Ermengem (1) bei dieser von ihm in geradezu mustergültiger Weise untersuchten Schinkenvergiftung feststellte, bildet ein von ihm als Bacillus botulinus bezeichneter, zu den Anaërobiern gehöriger Saprophyt, wenn er Gelegenheit findet, sich im Fleische postmortal anzusiedeln, unter für ihn günstigen Verhältnissen das so gefährliche Wurstgift.

Nach den bisherigen Erfahrungen ist bei zweckmässiger Aufbewahrung, und wenn die Zubereitung bezw. Conservirung nach den altbewährten Methoden erfolgt, die Entwickelung dieses Wurstgiftes in dem Fleisch bezw. den Fleischwaaren nicht zu befürchten. Der Einzelne vermag sich nach van Ermengem vor der Wurstvergiftung dadurch zu schützen, dass er Fleischspeisen von abnormem Aussehen, Geruch und Geschmack, insbesondere von ranzigem Geschmack überhaupt meidet oder doch nur in frisch gekochtem Zustand geniesst, da das Botulismusgift durch die Kochhitze sicher zerstört wird.

Wesentlich anders nun verhalten sich die sogenannten Fleischvergiftungen. Hier stammt das die Erkrankung veranlassende Fleisch nach den bisherigen Ermittelungen in der Regel von kranken Schlachtthieren, meist Rindern — und zwar hauptsächlich Kühen und Kälbern — seltener Pferden, Schweinen und Ziegen. Die Mehrzahl der Fleischvergiftungen sind durch das Fleisch nothgeschlachteter, nicht wenige durch das Fleisch krepirter Thiere veranlasst. Septische und enteritische, seltener pyämische Processe kommen hier hauptsächlich in Betracht; bei den Kühen spielen die puerperalen Erkrankungen und die Euterentzündungen, bei den Kälbern die von der Nabelwunde ausgehenden Infectionen die wichtigste Rolle, Infectionen nach Wunden und Verletzungen scheinen weniger häufig Fleischvergiftungen nach sich zu ziehen.

Zum Unterschied von der Wurstvergiftung erweist sich hier das Fleisch schon unmittelbar nach dem Schlachten als gesundheitsschädlich, wenn auch manche Erfahrungen und Beobachtungen dafür sprechen, dass die Schädlichkeit desselben mit der Aufbewahrung zunehmen kann.

Während sich bei der Wurstvergiftung nur in einzelnen Theilen, nicht in dem gesammten Fleisch eines Schlachtthieres das Gift entwickelt, können hier alle zum Consum gelangenden Theile des kranken Thieres Erkrankungen der Consumenten hervorrufen, wobei indess zu erwähnen ist, dass gewissen Theilen, wie z. B. den Eingeweiden, nach den bisherigen Erfahrungen häufiger ein höherer Grad von Schädlichkeit zuzukommen scheint.

Im Aussehen, Geruch und Geschmack sowie auch in der Consistenz unterscheidet sich das Fleisch solcher kranken Thiere erfahrungsgemäss oft gar nicht von dem Fleisch gesunder, auch die aus krankem Fleisch hergestellten Speisen und Conserven lassen sich daher äusserlich von solchen aus gesundem Fleisch häufig nicht unterscheiden, ein Umstand, der den Menschen schon mehrfach verhängnissvoll geworden ist. Nicht nur Laien, sondern selbst Beamte, denen die Begutachtung von Fleisch und Fleischwaaren oblag, haben sich gelegentlich schon durch das tadellose Aussehen verleiten lassen, von Hackfleisch, Wurst und anderen Fleischwaaren, die im Verdacht standen, Fleischvergiftungen veranlasst zu haben, zu essen, und mehrmals bereits haben die Menschen diese Unvorsichtigkeit mit schwerer Krankheit, ja sogar mit dem Leben büssen müssen.

Noch ein Unterschied verdient hervorgehoben zu werden. Während das Wurstgift durch das übliche Braten bezw. Kochen vernichtet wird, sind bei manchen Fleischvergiftungen auch Erkrankungen durch gut gebratenes bezw. gekochtes Fleisch, ja sogar allein durch den Genuss der Fleischbrühe zu Stande gekommen.

Wir haben gesehen, dass ganz verschiedene Affectionen der Thiere Fleischvergiftung erzeugen können. Dem entsprechend ist heute auch das Krankheitsbild bei den sogenannten Fleischvergiftungen ein recht mannigfaltiges, so dass man allein drei Formen, eine gastroenteritische, eine cholera-, sowie eine typhusähnliche aufgestellt hat, ohne dass sich indess alle bereits bei den Fleischvergiftungen beobachteten Erkrankungsformen bei diesen unterbringen lassen. Im Allgemeinen lässt sich nur sagen, dass, während bei der Wurstvergiftung Muskellähmungen das Krankheitsbild beherrschen, hier Erscheinungen von Seiten des Magendarmcanals im Vordergrund stehen. Bei der typhusähnlichen Form erinnern nicht nur die Symptome an Typhus, sondern es beginnt die Krankheit auch erst nach einer längeren Incubation (4 bis 9 Tage), und hat man gerade hier das Auftreten secundärer Erkrankungen häufiger beobachtet, d. h. es erkrankten aus der Umgebung der von Fleischvergiftung Befallenen solche, die gar nicht von dem verdächtigen Fleisch gegessen hatten, offenbar in Folge von Ansteckung durch die Ausscheidungen der Fleischvergifteten.

Ist auch die typhusähnliche Form der Fleischvergiftung bisher am Seltensten beobachtet worden, so hat sie doch in der bekannten Klotener Epidemie zu einer der ausgedehntesten Massenerkrankungen durch Fleischgenuss geführt, insofern damals im Ganzen 657 Personen, darunter 55 sekundär erkrankten und 6 starben.

Etwas häufiger sind anscheinend die unter dem Bilde eines Choleraanfalles verlaufenden Fleischvergiftungen mit Erbrechen, Durchfall, Reiswasserstühlen, Wadenkrämpfen und algiden Temperaturen. Der Ausbruch der Krankheit erfolgt hier selten später als 14 bis 30 Stunden nach der Fleischmahlzeit, oft aber schon wenige Stunden nach derselben.

Letzteres gilt auch von der bisher am häufigsten beobachteten gastroenteritischen Form, die unter Fieber zu verlaufen pflegt, und bei welcher Uebelkeit und Erbrechen, Leibschmerzen und Durchfall die gewöhnlichsten Symptome bilden, zu denen sich oft Kopf-, Kreuz- und Gliederschmerzen, grosse Schwäche, Schwindel- und Ohnmachtsanfälle hinzugesellen. In einigen Epidemieen hat man allerlei Hautausschläge, Herpes labialis, Hauterytheme, Ecchimosen u. s. w., sowie in der Reconvalescenz eine Abschälung der Oberhaut beobachtet. Während leichtere Fälle in 2 bis 5 Tagen genesen, können schwere ebenso viel Wochen bis zur vollen Genesung beanspruchen. In letal verlaufenen Fällen fanden sich, ausser den Zeichen eines acuten Magendarmkatarrhs, öfters fettige Degeneration der Leber, acute parenchymatöse Nephritis, Lungenhyperämie, Ecchymosen u. s. w.

Die Fleischvergiftungen gehören bei uns zu den häufigeren Vorkommnissen, sie ereignen sich jedenfalls weit häufiger als die in der

neueren Zeit glücklicherweise seltener gewordenen Wurstvergiftungen. Ostertag hat in seinem Handbuch der Fleischbeschau allein für die Zeit von 1880 bis 1894 55 grösstentheils in Deutschland vorgekommene Fleischvergiftungsepidemieen mit mehr als 2700 Einzelerkrankungen und beiläufig 32 Todesfällen aus der Litteratur zusammengestellt. Diese Zahlen bleiben aber offenbar hinter der Wirklichkeit weit zurück, denn nicht alle Epidemieen werden veröffentlicht, und bei vielen durch Fleisch verursachten Erkrankungen an Gastroenteritis wird, sofern nicht eine örtliche und zeitliche Häufung derselben auf die richtige Spur führt, die wahre Natur des Leidens verkannt. Jedenfalls haben wir, zumal die Sterblichkeit eine recht hohe sein kann — in der Epidemie von Denis starben nach Kuborn (2) allein 9 von 30 Erkrankten, entsprechend einer Sterblichkeit von 30 Procent — allen Grund auf eine Verhütung oder doch wenigstens Verminderung der Fleischvergiftungen hinzuwirken. Das ist aber nur durch eine geeignete Fleischbeschau zu erreichen.

Alles Fleisch von kranken Thieren, dessen Genuss die Erkrankung des Consumenten befürchten lässt, muss vom Verkehr ausgeschlossen werden, oder es darf solches, sofern es durch Kochen jegliche Schädlichkeit verliert, nur in gut gekochtem Zustande abgegeben werden. Diese Forderung setzt aber eine genaue Bekanntschaft mit den Fleischvergiftung bewirkenden Krankheiten der Thiere und insbesondere mit deren Erregern voraus, um in zweifelhaften Fällen durch bakteriologische Untersuchung ein sicheres Urtheil über die Gesundheitsschädlichkeit des Fleisches zu erlangen.

Bedürfen nun auch unsere Kenntnisse auf diesem Gebiete noch sehr der Vervollständigung, so haben doch in den beiden letzten Jahrzehnten die Untersuchungen mehrerer Forscher, von denen als die grundlegenden diejenigen von Gaffky und Paak, sowie von Gärtner in erster Linie Erwähnung verdienen, in die bis dahin dunkle Aetiologie der Fleischvergiftungen einiges Licht gebracht.

I. Die bisher bei Fleischvergiftungen aufgefundenen Krankheitserreger.

Bei einer grösseren Zahl von Fleischvergiftungen gastroenteritischen Charakters gelang es aus dem verdächtigen Fleisch, manchmal zugleich auch aus Leichentheilen der der Vergiftung Erlegenen, sowie aus den Ausscheidungen der Kranken Bakterien zu züchten, die als die Erreger der betreffenden Fleischvergiftung angesehen werden mussten, weil es mit Hülfe derselben gelang, bei Mäusen und Meerschweinchen nicht nur, sondern auch bei Ziegen, Kälbern und Affen, ja in vereinzelten Fällen auch beim Menschen

29*

durch einfache Verfütterung das Krankheitsbild der Fleichvergiftung in allen wesentlichen Punkten zu erzeugen. In allen diesen Fällen handelte es sich um Bakterien, die zur Colityphusgruppe gehören, und die, sofern sie nicht mit einander identisch waren, einander doch ausserordentlich nahe standen. Allerdings sind von manchen Untersuchern auch andere Bakterien als die Erreger von nach Fleischgenuss vorgekommen, Massenerkrankungen angesprochen worden, so von Kuborn (2) der Staphylococcus pyognes flavus, von Levy (3), Wesenberg (4), Glücksmann (5), Silberschmidt (6) und Pfuhl (7) der Bacillus proteus vulgaris bezw. eine Abart desselben, und von Hamburger (8) der bacillus cellulaeformans. Indess Kuborn ist den Beweis dafür schuldig geblieben, dass der von ihm in 5 Proben aus verdächtigen Fleisches aufgefundene Staphylococcus die Erkrankungen der Menschen verursacht hat, und die Befunde von Proteus bezw. von Bacillus cellulaeformans beziehen sich auf Fälle, in denen das Fleisch nach Annahme der Untersucher theils sicher (Levy, Silberschmidt, Hamburger), theils höchst wahrscheinlich (Wesenberg, Glücksmann und Pfuhl) erst postmortal die schädliche Beschaffenheit angenommen hat, also auf verdorbenes Fleisch. Bei den eigentlichen Fleischvergiftungen dagegen wurden durchweg nicht sporenbildende, bewegliche, die Gelatine nicht verflüssigende, nach Gram nicht färbbare Kurzstäbchen beschrieben, die nach Grösse, Gestalt, Beweglichkeit, auch nach Beschaffenheit, Zahl und Anordnung ihrer Geisseln sich dem Typhus und Colibacterium vergleichen lassen, die sich aber vom Typhusbacterium durch das coliartige Wachsthum auf der Kartoffel und die Vergährung von Traubenzucker, von dem Bacterium coli andererseits dadurch unterscheiden lassen, dass sie nur Traubenzucker, nicht aber Rohr- und Milchzucker vergähren, und dass sie in Folge dessen auch die Milch nicht zur Gerinnung bringen. Die bei Weitem grösste Mehrzahl der als Fleischvergiftungsbakterien beschriebenen Organismen bildet auch kein Indol. Von besonderer Wichtigkeit sind aber für ihre Unterscheidung von Typhusbacterium und von Bacterium coli commune ihre ausgesprochene Infectiosität sowie die vielen zukommende Fähigkeit, giftige Stoffe zu bilden. Minimale Mengen der Cultur genügen meist, um nach Einbringen in die Bauchhöhle, in das Unterhautgewebe — bei einer Art schon nach Einreiben in die scarificirte Haut oder Hornhaut — oder, wie schon erwähnt, nach einfacher Verfütterung bei den empfänglichen Thieren eine gewöhnlich zum Tode führende Infection auszulösen.

Nach der Verfütterung bleiben die Bakterien nicht auf den Digestions-

tractus beschränkt, sie lassen sich vielmehr in der Regel ebenso wie nach der Impfung im Blut, in den Eingeweiden, — hier oft in herdförmiger Anordnung ähnlich wie die Typhusbakterien —, sowie auch im Muskelfleisch nachweisen.

Von einigen dieser Bakterien ist die Bildung giftiger Stoffe, welche das Kochen vertragen, experimentell festgestellt, wodurch sich die bei manchen Epidemieen auch nach dem Essen gut gebratener oder gekochter Fleischspeisen, ja selbst nach dem Genuss von Fleischbrühe erfolgten Erkrankungen erklären. Dieselben sind eben als reine Vergiftungen aufzufassen, während nach dem Genuss rohen bezw. ungenügend gekochten Fleisches neben dem im Fleisch bereits gebildeten Gift auch noch die lebenden Bakterien in den Körper eingeführt werden, in welchem Falle dann zur Vergiftung auch noch eine Infection hinzutreten kann. Wenn man in manchen Fällen schon wenige Stunden nach dem Fleischgenuss die Krankheit zum Ausbruch kommen sah, so erklärt sich das am Ungezwungensten durch das mit der Mahlzeit aufgenomme vorgebildete Gift. Wo aber, wie es zuweilen vorgekommen, erst mehrere Tage nach der Fleischmahlzeit die Krankheit einsetzt, kann es sich nur um eine Infection, bedingt durch die mit dem Fleisch eingeführten Erreger handeln. Eine solche liegt auch bei den secundären Erkrankungen vor, bei welchen, wie bereits erwähnt, die Ansteckung offenbar durch die Ausscheidungen der an Fleischvergiftung Erkrankten vermittelt wird.

Die erwähnte ausgesprochene pathogene Wirkung der Fleischvergiftungsbakterien in Verbindung mit der meist mangelnden Indolbildung, sowie dem Unvermögen, Milchzucker zu vergähren und die Milch zu coaguliren, lässt daran denken, dass wir es mit nahen Verwandten der Erreger der Schweinepest (Hogcholera bezw. deutsche Schweinepest) zu thun haben.

Zur Charakterisirung der von den einzelnen Autoren aufgefundenen Erreger mögen die folgenden Angaben dienen:

Die ersten Fleischvergiftungsbakterien wurden von Gaffky und Paak (9) im Jahre 1885 aus Rossfleischwürsten gezüchtet, die neben Rossfleisch und Rossleber in Röhrsdorf und Umgegend bei mehr als 80 Personen zu gastroenteritischen Erkrankungen mit einem Todesfall geführt hatten. Eine Reihe von Umständen sprachen dafür, dass die Wurst, das Fleisch und die Leber von einem kranken Pferde herstammten. Die Fleischwaaren befanden sich übrigens z. Th. in einem weit vorgeschrittenen Stadium der Zersetzung, die Würste waren nur leicht angewärmt genossen worden.

Wenn diese Bakterien auch in Gelatine weniger üppig wuchsen als das Bacterium coli, so gelang es doch nicht, sie in Plattenculturen von den gewöhnlichen Darmbakterien sicher zu unterscheiden. Ueber das Verhalten ihrer Geisseln ist bisher nichts mitgetheilt, sie bewirken nach

Gaffky (10) keine Gerinnung der Milch und bilden nach Petri (11) auch kein Indol. Durch Fütterung mit ihren Culturen konnte bei Meerschweinchen, Mäusen und Affen regelmässig eine acute, meist tödtliche Enteritis ausgelöst werden, bei Meerschweinchen und Kaninchen gelang die Infection schon durch Einreiben der Culturen in die scarificirte Haut oder Hornhaut. Die bei den inficirten Meerschweinchen öfters beobachteten Lähmungen der Hinterbeine wurden auf entzündliche bezw. nekrotische Processe der Wirbelsäule zurückgeführt. Bemerkenswerth war das Auftreten von Abscessen an verschiedenen Körperstellen, sowie das Vorkommen eigenthümlicher nekrotischer Herde in der Milz und Leber namentlich, wenn der Tod der Versuchsthiere erst spät erfolgte. Der Siedhitze ausgesetzte Culturen erwiesen sich als wirkungslos.

Den Fleischvergiftungsbakterien von Gaffky und Paak steht der Bacillus morbificans bovis nahe, den Basenau (12) im Jahre 1893 aus dem Fleisch einer nach dem Kalben nothgeschlachteten Kuh gezüchtet hat. Zu Erkrankungen des Menschen kam es hier nicht, weil das Fleisch nicht in den Verkehr gelangte. Durch die grobe Körnung des zarten peripheren Abschnittes gelang es, die stark ausgebreiteten Oberflächencolonieen dieses Bakteriums von denjenigen des Bacterium coli regelmässig zu unterscheiden. In einer späteren Veröffentlichung (13) wird von Basenau eine derartige Unterscheidung des Bacillus morbificans vom Bacterium coli nicht mehr gemacht. Der Bacillus morbificans bildel Indol, eine mir vor Jahren von Professor Forster in liebenswürdigster Weise überlassene Cultur desselben zeigte diese Eigenschaft allerdings nie. Durch Verfütterung liessen sich ausser Mäusen und Meerschweinchen auch Ratten und Kälber inficiren, der Impfung waren ausser Kaninchen auch Ziegen zugänglich, nicht dagegen Hunde und Katzen, die sich auch Gaffky und Paak als immun erwiesen hatten. Von den Fleischvergiftungsbakterien der Letzteren glaubt Basenau sein Bacterium auch darum unterscheiden zu dürfen, weil die Infection bei seinen Versuchsthieren im Allgemeinen langsamer verlief, weil auch nach der Fütterung die enteritischen Erscheinungen weniger ausgesprochen waren und weil bei den Versuchsthieren häufig zahlreiche grauweisse Herde in der Leber und Milz gefunden wurden. Toxische Stoffe konnte Basenau auch in den nicht erhitzten Culturen nicht nachweisen.

Basenau hat später (13) noch aus dem Fleisch von septisch bezw. pyämisch erkrankten Schlachtthieren in 6 Fällen „Fleischbacillen" gezüchtet. Zwei derselben reihen sich dem morbificans an, indem sie Indol bilden, in der Milch keine Gerinnung bewirken und auch keine giftigen Stoffe produciren. Von den vier übrigen vergährt einer nicht nur Milchsondern auch Rohrzucker, zwei bilden Indol und drei ein mehr oder weniger hitzebeständiges Gift.

Diese letzteren nähern sich durch ihre Giftbildung dem von Gärtner (14) im Jahre 1888 gelegentlich der Frankenhäuser Fleischvergiftung gezüchteten „Bacillus enteritidis". Das Fleisch einer wegen Enteritis nothgeschlachteten Kuh hatte bei 57 Personen, von denen einige dasselbe roh, die meisten aber im gebratenen oder gekochten Zustand, drei sogar bloss die Bouillon genossen hatten, Gastroenteritis hervorgerufen. Bei den schweren Erkrankungen beanspruchte die Genesung 2 bis 4 Wochen, hier kam es in der Reconvalescenz zu einer Abschälung nicht nur der dünnen Epidermis an den bedeckten Körpertheilen, sondern auch der verhornten Oberhaut an den Händen und Füssen, wodurch längere Arbeitslosigkeit bedingt wurde. Ein Arbeiter, welcher $1^1/_2$ Pfund von dem rohen Fleisch verzehrt hatte, erlag der Krankheit.

Die Mutter des Verstorbenen, welche den Kranken gepflegt hatte, erkrankte später gleichfalls unter denselben Erscheinungen, sie war die einzige unter den gesammten 58 Personen, welche weder Fleisch noch Brühe von der nothgeschlachteten Kuh genossen. Hier musste die Infection durch die Ausscheidungen des Sohnes erfolgt sein.

Aus der Milz des Verstorbenen gelang es durch die Cultur, aus dem Fleisch und den Eingeweiden der Kuh auch durch Verfütterung und Verimpfung auf Versuchsthiere den Enteritisbacillus zu isoliren. Dadurch, dass sich in älteren Gelatineculturen die Bakterien nur an dem einen Ende, bei Doppelstäbchen an den einander zugekehrten Enden färbten, und dass in Gelatineplattenculturen bei 100facher Vergrösserung die fast farblosen Oberflächencolonieen eine grobe, an Hefen erinnernde Körnung aufwiesen, gelang die Unterscheidung von den gewöhnlichen Darmbakterien leicht und sicher. Von den tief gelegenen Colonieen wird die braune Färbung, sowie eine leicht angedeutete Strichelung hervorgehoben. Bei längerer Züchtung auf unseren Nährböden sollen sich allerdings nach späteren Angaben, sowie nach einer brieflichen Mittheilung von Gärtner die partielle Färbung, sowie die grobkörnige Beschaffenheit der Colonieen verlieren, wie denn auch der Enteritisbacillus die Fähigkeit, Gifte zu bilden, bei der Weiterzüchtung einbüssen soll. Da sich Gärtner damals über mehrere Punkte, die heutzutage bei der Unterscheidung der coliähnlichen Bakterien berücksichtigt werden, nicht geäussert hat, so mag hinzugefügt werden, dass eine mir von Gärtner freundlichst überlassene Cultur weder Indol bildet, noch auch Milch- und Rohrzucker vergährt. Dieselbe bewirkt in der Milch keine Gerinnung, macht dieselbe aber allmählich durchscheinend und alkalisch. Auch gewöhnliche Nährbouillon, Milchzuckerpeptonlösungen und Lackmusmolke nehmen, wenn sie mit dem Gärtner'schen Enteritisbacterium geimpft werden, nach anfänglicher Säurebildung eine alkalische Reaction an. Seine lebhafte Eigenbewegung

verdankt derselbe 4 bis 8 peritrich angeordneten, langen, welligen Geisselfäden.

Durch Verfütterung der Culturen gelang es Gärtner Mäuse, Meerschweinchen und eine Ziege, durch Verimpfung ausser den genannten Thieren noch Kaninchen, Tauben, sowie einen Kanarienvogel zu inficiren. Hunde, Katzen, Hühner und Sperlinge erschienen immun.

Auch die geimpften Thiere bekamen Durchfall. Entzündung des Dünndarms, Blutungen, sowie Infiltration der Lunge bildeten den regelmässigen Obduktionsbefund. Durch das Mikroskop und die Cultur wurden im Blut und den inneren Organen die Enteritisbacillen nachgewiesen.

Auch mittelst gekochter Culturen, sowie mit Bouillon, die aus künstlich mit Enteritisbacillen inficirtem Fleisch hergestellt war, liessen sich die Thiere durch Impfung, die besonders empfänglichen auch durch Verfütterung tödten. Ausser den Erscheinungen von Magendarmcatarrh traten hier allerlei nervöse Störungen, insbesondere Lähmungen als Ausdruck der Giftwirkung zu Tage.

Weil das Abschälen der Epidermis bei früheren Fleischvergiftungsepidemieen nicht beschrieben worden war, glaubte Gärtner schliessen zu dürfen, dass die Frankenhäuser Erkrankungen einer seltener vorkommenden Form der Fleischvergiftung angehörten, indess ist seitdem dieses Symptom bei mehreren Fleischvergiftungen angetroffen worden, und ist man dem Enteritisbacillus nicht nur bei einer Reihe von Fleischvergiftungen, sondern auch sonst gelegentlich begegnet.

Der erste, der den Gärtner'schen Bacillus wieder fand, war Karlinski (15). Bei einer gastroenteritischen Erkrankung nach dem Genuss von getrocknetem Ziegenfleisch, die sich 1889 in der Herzegowina ereignete, züchtete er ihn aus den Ausscheidungen des Kranken, bei dem übrigens in der Reconvalescenz Epidermisabschilferung am Halse und an den Extremitäten beobachtet wurde, sowie auch aus dem getrockneten Ziegenfleisch. Den Enteritisbacillus, der sich für Ziegen und ebenso für ein Schaf als virulent erwies, will er dann auch noch bei anderen Menschen im Stuhl bezw. Darminhalt, sowie im Darm gesunder Ziegen angetroffen haben.

Auch Gärtner erwähnt das häufigere Vorkommen seines Enteritisbacillus in faulenden Menschen- und Thierleichen in einem Bericht (16) über die Fleischvergiftung in Cotta bei Dresden, woselbst im Jahre 1889 136 Personen nach dem Genuss des Fleisches einer wegen Euterentzündung nothgeschlachteten Kuh erkrankten und vier davon starben. Aus dem Fleisch und dem Knochenmark der Kuh, sowie aus dem Darminhalt, Blut und der Milz zweier Verstorbener wurde hier ein dem Enteritisbacillus morphologisch und tinktoriell ähnliches, für Mäuse pathogenes Bacterium gezüchtet, welches aber keine giftigen Culturen lieferte. Das gekochte Fleisch und

die Fleischbrühe von der Kuh erwiesen sich als nicht giftig. Von den nach dem Fleischgenuss erkrankten Menschen hatten erwiesenermaassen die Meisten das Fleisch roh gegessen.

Lubarsch (17) züchtete bei einer septischen Pneumonie eines Neugeborenen aus Lunge und Milz den Enteritisbacillus. Auffallend erscheint hier die Angabe, dass derselbe in der Milch Gerinnung bewirkt, was der Gärtner'sche nach meinen Beobachtungen, mit denen auch diejenigen von van Ermengem, Durham u. A. übereinstimmen, nicht thut.

P. F. Holst (18) fand bei einer ihrer Entstehung nach unaufgeklärten Fleischvergiftung, die sich in der Irrenanstalt zu Gaustadt im Jahre 1891 ereignete, und bei welcher von 81 Erkrankten vier starben, ein durch Färbung sowie sein Verhalten in Gelatineplatten vom Bacterium coli angeblich nicht zu unterscheidendes Stäbchen in der Milz der Verstorbenen. Dasselbe bewirkte in der Milch keine Gerinnung, es bildete wohl Anfangs Indol, später aber nicht mehr. Für Kaninchen erwies es sich virulenter als für Mäuse, Meerschweinchen und Tauben. Eine toxische Wirkung gekochter Culturen war nur bei Kaninchen und zwar nach intravenöser Einverleibung nachzuweisen. Als Obductionsbefund bei den der Impfung und Verfütterung erlegenen Kaninchen wird ulceröse Enteritis angegeben, nach intravenöser Einverleibung wurden Hämorrhagien in den serösen Häuten und in den Lungen beobachtet. Bemerkenswerth war in dieser Epidemie, abgesehen von der bei den Kranken häufiger beobachteten Albuminurie, das Auftreten von Erythemen mit Epidermisabschilferung in der Reconvalescenz.

Ob der isolirte Mikroorganismus mit dem Gärtner'schen Enteritisbacillus identisch ist, lässt sich bei der unvollständigen Beschreibung nicht sagen. Das Gleiche gilt von dem Bakterien, welche Poels und Nolen (19) bei der Fleischvergiftung zu Rotterdam im Jahre 1892 aus dem Fleisch isolirten. Von diesen mag hier nur hervorgehoben sein, dass sie die Milch nicht zur Gerinnung bringen, aber Indol bilden. Ziegen und Affen bekamen nach der Fütterung mit den Culturen Darmcatarrh, und Mäuse, welche die gekochten Cadaver der der Impfung erlegenen Mäuse verzehrten, starben. Kälber und Rinder erwiesen sich für intraperitoneale und subcutane Impfung weniger empfänglich, dagegen bewirkte Einspritzung in die Blutwege eine heftige Vergiftung (!). Ein Rind wurde 20 Minuten nachdem ihm eine geringe Culturmenge in die Halsvene gespritzt war, geschlachtet. Es fanden sich nur einzelne Bakterien im Blut, in der Milz und Leber, sowie in den Blutgefässen der Muskeln. Ein aseptisch entnommenes und 3 Tage lang bei Zimmertemperatur aufbewahrtes Stück Fleisch enthielt dagegen zahlreiche Bakterien, während an dem im Eiskeller aufbewahrten Fleisch eine Vermehrung der Bakterien nicht nachzuweisen war. 53 Personen wurden veranlasst, von diesem bei Zimmer-

temperatur aufbewahrten Fleisch zu essen, 15 derselben erkrankten nach 12 bis 18 Stunden an Kopfweh, Magendarmcatarrh und Bauchschmerzen. Ich theile den Versuch mit, weil daraus ersichtlich ist, dass die Schädlichkeit des Fleisches in Folge der Vermehrung der Fleischbakterien und wohl auch der Gifte mit der Dauer der Aufbewahrung eine Zunahme erfahren kann, möchte aber im Uebrigen vor der Ausführung eines derartigen unvorsichtigen Versuchs am Menschen auf das Entschiedenste warnen, da sich die Grösse der Gefahr hier nicht im Voraus bestimmen lässt.

Eine weitgehende Uebereinstimmung mit dem Gärtner'schen Bacillus zeigen nun die von van Ermengem (20) bei den Fleischvergiftungen in Moorseele 1892, sowie in Gent 1895 isolirten Bakterien.

Im ersteren Falle handelte es sich um 80 z. Th. sehr schwere Erkrankungen mit 4 Todesfällen nach dem Genuss des Fleisches von zwei Kälbern, die an Durchfall gelitten hatten und von dem das eine crepirt, das andere nothgeschlachtet war. Die Meisten hatten das Fleisch in gut gebratenem bezw. gekochtem Zustand gegessen. Die Krankheit begann meist schon wenige Stunden nach der Mahlzeit, nur in einem tödtlich verlaufenen Falle, bei welchem das zu einer Pastete verarbeitete Fleisch genossen war, vergingen 4 Tage, ehe sich die ersten Symptome einstellten. Bewerkenswerth waren Ecchymosen über den ganzen Körper in den schweren Fällen. Auch ein Hund, welcher einen Knochen von dem Kalb abgenagt hatte, ging nach 4 tägiger Krankheit ein. Aus dem Mark eines übrig gebliebenen Kalbsknochens und aus den übrigens bereits stark faulen Organen eines Verstorbenen wurden die Enteritisbacillen gezüchtet. Nicht nur die für die Fleischvergiftungsbakterien gewöhnlich empfänglichen Thiere liessen sich mit den Bakterien inficiren, sondern auch ein junger Hund, der ein der Impfung mit den Bakterien erlegenes Kaninchen gefressen, ging zu Grunde. Ausserdem bekamen einige Personen, die von gesundem, mit dem Moorseeler Bacillen geimpften Fleisch gegessen hatten, eine intensive Gastroenteritis. Enteritis, Hämorrhagien in Lunge, Leber und Milz, sowie bei langsamem Verlauf weisse, grosse Mengen von Bacillen enthaltende Herde in Leber und Milz bildeten den Obductionsbefund bei den Versuchsthieren.

Von dem Gifte, welches die Bakterien bilden, wurde festgestellt, dass es Temperaturen von 100 bis 120° C. verträgt.

In Gent erkrankten im Ganzen 12 Personen, hier ging die Fleischvergiftung von aus frischem Schweine- und geräuchertem Rindfleisch hergestellten Cervelatwürsten aus. Ueber etwaige Erkrankungen der Thiere, von welchen das Fleisch stammte, liess sich nichts mehr ermitteln. Der Inspektor des Fleischschauamtes, welchem die verdächtigen Würste zur Begutachtung vorgelegt waren, trug wegen ihres tadellosen Aussehens kein

Bedenken, davon zu essen und veranlasste auch mehrere Schlachthausangestellte, davon zu geniessen. Sie alle erkrankten. Während aber bei den Letzteren Genesung eintrat, starb der erstere nach 5 tägiger schwerer Krankheit. Auch bei dieser Fleischvergiftung wurde ähnlich wie bei der Frankenhäuser eine secundäre Erkrankung beobachtet. Ein Ehemann, welcher seine nach Genuss solcher Wurst erkrankte Frau gepflegt hatte, erkrankte schliesslich unter denselben Krankheitserscheinungen, obwohl er selbst gar nicht von der Wurst gegessen hatte.

Gastroenteritis, acute parenchymatöse Nephritis, fettige Degeneration der Leber und Lungenhyperämie bildeten die wichtigsten Befunde bei der Obduction des letal verlaufenen Falles, bei welchem schon zu Lebzeiten Albuminurie festgestellt war. Aus mehreren Würsten sowie aus verschiedenen Organen, dem Blut und dem Muskelfleisch des Verstorbenen wurden die Bakterien durch Aussaaten bezw. durch Verimpfung und Verfütterung an Thiere nachgewiesen. Hunde gelang es diesmal nicht zu inficiren. Die Bakterien erwiesen sich oft lückenhaft gefärbt, wobei allerdings die Mitte meist ungefärbt blieb. Gelatineplattencolonieen liessen sich schon mit blossem Auge, sicher aber durch Besichtigung bei schwacher Vergrösserung vom Bacterium coli commune unterscheiden, weil die farblose Randpartie feingekörnt und etwas gestreift erschien. Jedenfalls bezeichnet van Ermengem die von ihm bisher nur bei Gelegenheit der beiden Fleischvergiftungen aufgefundenen Bakterien als mit dem Gärtner'schen Enteritisbacillus in allen wesentlichen Punkten übereinstimmend. Dabei weist er auf die Aehnlichkeit hin, welche zwischen den Enteritisbacillen und den Erregern von Schweinepest und Hogcholera besteht, und spricht er zugleich die Vermuthung aus, dass die Fleischvergiftungen zu gewissen Epizootien, wie z. B. der Hogcholera und der infectiösen Kälberpneumo-Enteritis in ursächlicher Beziehung stehen.

In der Litteratur finden sich noch mehrfach Angaben, wonach es bei Fleischvergiftungen gastrointestinalen Charakters gelungen ist, den Gärtner'schen Enteritisbacillus aufzufinden. Da sich aber die Untersucher hier oft nur auf die blosse Angabe des Befundes beschränken, ohne Mittheilungen über das mikroskopische, culturelle, sowie thierpathogene Verhalten zu machen, ist ein Urtheil darüber, ob in der That der Gärtner'sche Bacillus vorlag, nicht möglich.

So will Scheef (21) bei einer Fleischvergiftung, die sich im September 1896 in Horb ereignete, und bei der 150 Personen nach dem Genuss von Leberwurst bezw. Kalbscoteletten erkrankt waren, in der Wurst sowie in den Ausscheidungen der Kranken einen dem Gärtner'schen sehr ähnlichen Bacillus nachgewiesen haben. Zu den Leberwürsten war neben Schweinefleisch Fleisch von demselben Kalbe verwendet, von welchem

auch die Coteletten stammten, die damals in einem Fall gleichfalls zur Fleischvergiftung geführt hatten. Das Kalb hatte an einer Kniegelenksentzündung gelitten, wie sie als Folgeerscheinung einer Nabelinfection gar nicht so selten vorkommt. Diejenigen, welche die übrigens tadellos aussehende Leberwurst vor dem Genuss gebraten hatten, kamen mit einer ganz leichten Erkrankung davon.

Mehrfach scheint Durham (22), auf dessen serodiagnostische Untersuchungen später zurückzukommen ist, dem Gärtner'schen Enteritisbacillus begegnet zu sein, da er sich bei diesen Untersuchungen mehrerer Stämme von Enteritisbakterien bediente. Eine Varietät des Gärtner'schen Bacteriums will er aus der Leber einer an Fleischvergiftung Verstorbenen gezüchtet haben. Vom Typhus- und Colibacterium unterscheidet sich der Gärtner'sche Enteritisbacillus nach Durham (23) durch die Körnung und fehlende Furchenbildung der Gelatineoberflächencolonieen. Er wächst auf Gelatine schwächer als das Coli-, kräftiger als das Typhusbacterium, ist lebhafter beweglich und hat mehr Geisseln (10 und darüber) als das erstere. An die anfängliche schwache Säuerung in Lackmusmolke bezw. neutraler Capaldi-Proskauer-Lösung (= 2 Procent Pepton, 0·1 Procent Traubenzucker) schliesst sich schon sehr früh eine kräftige Alkalibildung. Milch bringt er nie zur Gerinnung, Indigocarmin reducirt er stärker als das Typhus- und Coli-Bacterium, auf Kartoffeln bildet er im Brütapparat nach 24 Stunden eine so eben erkennbare Auflagerung, auf Kartoffelsaftagar ist seine Cultur etwas weniger durchscheinend als die Typhuscultur. Indolbildung fehlt. In Traubenzuckergelatine soll er bei 18 bis 20° kein Gas bilden, Gasbildung fehlt auch in milchzuckerhaltigen Nährböden, sofern dieselben keinen anderen Zucker enthalten. Im Brütapparat dagegen bildet er auf Nähragar oder Fleischbrühe, die Trauben- oder Muskelzucker enthalten, Gas. Von kräftig agglutinirendem Typhusserum wird er bei nicht zu starker Verdünnung agglutinirt, von hoch wirksamem Coliserum dagegen nie, Gärtnerserum soll nicht alle Angehörigen der Enteritisgruppe agglutiniren.

Barker (24) will aus Cornedbeef, welches bei 24 Personen Erkrankungen mit einem Todesfall hervorgerufen hatte, den Gärtner'schen Enteritisbacillus gezüchtet haben.

Einen dem Gärtner'schen Bacillus sehr nahestehenden Mikroorganismus soll nach van Ermengem (1, S. 53) auch G. Pouchet bei einer Fleischvergiftung gefunden haben.

Als mit dem Gärtner'schen übereinstimmend sieht Günther (25) ein Bacterium an, welches er bei einer Fleischvergiftung isolirte, die sich im Jahre 1896 im Kreise Kempen in der Provinz Posen ereignete. Nach

dem Genusse von Schweinefleisch, Wurst und Blut aus derselben Quelle erkrankten in etwa 26 Familien in mehreren Ortschaften zahlreiche Personen an zwei auf einander folgenden Tagen an fieberhaftem Brechdurchfall. Ein 47jähriger Knecht, der innerhalb 24 Stunden nach der Mahlzeit erkrankt war, starb nach kaum 12stündigem Kranksein. Aus der Leber und den Nieren der Leiche, die sich bereits in stark vorgeschrittener Fäulniss befanden, liess sich ein Kurzstäbchen isoliren, welches der oben gegebenen Beschreibung von dem allgemeinen Verhalten der Fleischvergiftungsbakterien entsprach; die Zahl der Geisseln betrug allerdings nur zwei bis fünf. (Durham [23] beobachtete an einer ihm von Günther überlassenen Cultur eine grössere Zahl von Geisseln, nämlich 10 bis 14 und noch mehr.) Aehnlich wie bei dem Gärtner'schen Bacterium färbte sich bei Gelatineculturen das Mittelstück der Stäbchen regelmässig stärker als die Enden, im hängenden Tropfen erschien das Mittelstück stärker lichtbrechend. Dagegen wird das Wachsthum auf Gelatine als typhusähnlich bezeichnet, so dass offenbar die für den Gärtner'schen Bacillus charakteristische Körnung der Colonieen fehlte. Obwohl das Günther'sche Bacterium die Milch nicht zur Gerinnung bringt, soll es doch Milchzucker in ganz schwachem Maasse vergähren. Indolbildung wurde an einer mir von Professor Günther freundlichst überlassenen Cultur regelmässig vermisst. Mäuse und Meerschweinchen liessen sich nicht nur durch Impfung, sondern auch durch Fütterung mit den Culturen inficiren, indess fehlten bei den der Infection erlegenen Thieren ausgesprochene Veränderungen am Darm. Die Bakterien fanden sich im Blut und in den Organen, in den letzteren in herdförmiger Anordnung. Kaninchen waren wenig, Hunde und Katzen gar nicht empfänglich. Ueber die Bildung etwaiger hitzebeständiger Giftstoffe findet sich nichts erwähnt. Nicht nur in morphologischer, sondern auch in biologischer Beziehung weicht das Günther'sche Bacterium mithin von dem Gärtner'schen etwas ab. Zu erwähnen wäre noch, dass sich bei dieser Fleischvergiftung in Betreff etwaiger Krankheiten der Thiere, von welchen das gesundheitsschädliche Fleisch stammte, nichts ermitteln liess.

Ob das Bacterium, welches Silberschmidt (26) bei einer Fleischvergiftung im Canton Thurgau im Jahre 1896 isolirte, mit dem Gärtner'schen Bacillus identisch ist, wie dies Silberschmidt selbst annimmt, und ob es überhaupt als die Ursache dieser Fleischvergiftung anzusehen ist, kann man bezweifeln. Damals waren zahlreiche Personen nach dem Genuss von gekochtem, gepökeltem und geräuchertem Schweinefleisch erkrankt. Das Fleisch stammte angeblich von Ferkeln, die wegen Röthung der Haut und Erscheinungen eines Magendarmkatarrhs nothgeschlachtet worden waren. Der Thierarzt hatte deshalb angerathen, das Fleisch zu

salzen. Die Krankheitserscheinungen bei denjenigen, welche von dem Fleisch gegessen, bestanden in Magendarmkatarrh, ein 4jähriges, bis dahin gesundes Kind starb daran. Aus den Ausscheidungen der Kranken und aus dem Fleisch wurde ein Kurzstäbchen gezüchtet, welches morphologisch sowie culturell wohl im Allgemeinen in das oben gegebene Schema von den Fleischvergiftungen hineinpasst. In seiner Färbung wich es von dem Gärtner'schen insofern ab, als das Mittelstück die Farbe nur schwach annahm, auf der Gelatine wuchs es nach dem Aërogenestypus. Durch den schwasch süsslichen Geruch sollen sich seine Culturen von Coliculturen unterscheiden lassen. Nur nach Einbringen der Kultur in das Peritoneum starben die Versuchsthiere, eine Infection derselben durch Verfütterung der Culturen gelang nicht, auch die Verfütterung des Fleisches an die Versuchsthiere war erfolglos geblieben. Interessant ist die bei dieser Fleischvergiftung gemachte Erfahrung, dass Salzen und Räuchern die Gesundheitsschädlichkeit des Fleisches nicht aufzuheben braucht, ja es ist, wie das auch Silberschmidt hervorhebt, denkbar, dass die Gesundheitsschädlichkeit des Fleisches beim Einsalzen zunächst sogar eine Steigerung erfährt, insofern sich die Bakterien Anfangs, wenigstens im Inneren der dicken Fleischstücke, noch vermehren können. Stadler (27) kommt auf Grund seiner experimentellen Untersuchungen über den Einfluss von Kochsalzlösungen auf die Fleischvergiftungsbakterien zu einer ähnlichen Auffassung, indem er sich dahin ausspricht, dass die Fleischvergiftungsbakterien innerhalb des Fleisches sicherlich nicht getödtet werden, es könne vielmehr bei dem geringen Kochsalzgehalt der meisten Pökelwaaren selbst während der Dauer des Pökelns noch eine Vermehrung sattfinden.

Es erübrigt jetzt noch das von Känsche (28) bei der Breslauer Fleischvergiftung im October 1893 aufgefundene Bacterium. Von einer auf einem Gute bei Breslau wegen fieberhaften Darmkatarrhs nothgeschlachteten Kuh, bei welcher Enteritis und Leberentzündung festgestellt war, sollte das Fleisch auf thierärztliche Anordnung als gesundheitsschädlich vernichtet werden. Es wurde indess gestohlen und in Breslau als Hackfleisch verkauft. 80 Personen erkrankten 3 bis 16 Stunden nach Genuss selbst kleiner Mengen (ca. 20 ^{grm}) dieses rohen Hackfleisches mit Fieber, Brechdurchfall, Herpes und Schwindel. Exantheme wurden nicht beobachtet, zu einem tödtlichen Ausgang kam es bei keinem der Erkrankten, aber die Genesung erfolgte vielfach erst nach längerer Zeit. Mit dem Fleisch gefütterte Hunde und Katzen erkrankten nicht, wohl aber Mäuse schon nach 3 bis 4 Stunden. Sie bekamen profuse Diarrhöen und gingen unter lähmungsartigen Erscheinungen in den hinteren Extremitäten zum Theil schon nach 12, spätestens nach 32 Stunden ein.

Enteritis mit kleinsten Blutaustritten unter die Darmserosa, und Anfüllung des ganzen Darmes mit gelblicher Flüssigkeit bildeten neben geringem Milztumor den regelmässigen Obductionsbefund. Blut und innere Organe enthielten in Reincultur dieselben Kurzstäbchen, die auch aus dem Fleisch unschwer in Reincultur erlangt wurden. Sie entsprachen dem oben gegebenen Schema von den Fleischvergiftungsbakterien nicht nur morphologisch und culturell, sondern auch in ihrem Verhalten zu den Versuchsthieren, indem sie sich Mäusen, Kaninchen und Tauben gegenüber ausserordentlich infectiös erwiesen. (Meerschweinchen scheinen zu diesen Versuchen nicht herangezogen zu sein.) Etwas abweichend war nur die grosse Zahl der als „sehr lange" beschriebenen Geisseln (meist mehr als 10 bis 12 und von der 30fachen Länge der Stäbchen). Von den Gärtner'schen Bakterien unterschieden sie sich durch das typhusähnliche Wachsthum der Gelatineplattencolonieen und ihre gleichmässige Färbung, ausserdem wich das Krankheitsbild und der Sectionsbefund bei den Versuchsthieren insofern ab, als das Känsche'sche Bacterium bei Mäusen profuse Diarrhöen veranlasste und sich die Enteritis nicht bloss auf den Dünndarm, sondern auch auf den Dickdarm erstreckte. Mit dem Gärtner'schen hatte das Känsche'sche Bacterium die Bildung hitzebeständiger Gifte gemein. Känsche ist geneigt, sein Bacterium mit dem von van Ermengem beschriebenen als identisch anzusehen, indess haben wir ja gesehen, dass van Ermengem sein Enteritisbacterium in Gelatineplattenculturen leicht von Typhus- und Colibakterien unterscheiden konnte und, dass sich dasselbe auch oft nur partiell färbte, während beides bei dem Känsche'schen Bacterium nicht der Fall war.

II. Im hygienischen Institut zu Kiel bei Fleischvergiftungen aus Fleisch bezw. Fleischwaaren isolirte Krankheitserreger.

Im Laufe der letzten 10 Jahre kam im hygienischen Institute zu Kiel neun Mal Material zur Untersuchung, welches im Verdacht stand, Fleischvergiftungen veranlasst zu haben. In vier Fällen, in denen es sich um Wurst handelte, blieb die Verfütterung derselben an Mäuse und Meerschweinchen ohne Erfolg, auch konnten aus der Wurst durch Aussaaten krankheitserregende Mikroorganismen nicht gezüchtet werden. In einem Falle, in welchem gekochtes, aus einer Exportschlachterei in Satrup bezogenes Salzschweinefleisch im Februar 1897 bei fünf Mitgliedern einer Familie in Tondern fieberhafte Gastroenteritis hervorgerufen hatte, starben von sechs damit gefütterten Mäusen vier, doch gelang hier in den Mäusecadavern ebenso wenig wie in dem von Herrn Kreisphysikus

Dr. Horn zur Untersuchung eingeschickten Reste des gekochten Salzfleisches der Nachweis von Krankheitserregern. Weil man daran denken musste, dass die Mäuse möglicher Weise die Fütterung mit Salzfleisch schlecht vertragen, wurden drei weitere Mäuse mit anderweitig bezogenem Salzschweinefleisch in gleicher Weise gefüttert; da sie gesund blieben, so erscheint die Annahme zulässig, dass die ursprünglich in dem Salzschweinefleisch enthaltenen Fleischvergiftungsbakterien in Folge des Kochens abgetödtet, die von ihnen im Fleisch bereits gebildeten Gifte aber nicht unwirksam geworden waren und die Fleischvergiftung im vorliegenden Falle verursacht hatten.

Dagegen wurden in zwei Fällen aus dem eingesandten Rindfleisch die Gärtner'schen Enteritisbakterien sowie einmal aus einer Leberpastete und einmal aus den Resten zweier Leberwürste ein Bacterium gezüchtet, welches morphologisch sowie culturell von dem Bacterium coli commune nicht zu unterscheiden war, aber bei der Verfütterung an Mäuse den Tod derselben unter den Erscheinungen der hämorrhagischen Enteritis herbeiführte.

Bei dem aus der Leberpastete erlangten Stäbchen liess sich in Bouillonculturen auch die Bildung eines Giftes nachweisen, welches durch die 10 Minuten lange Einwirkung einer Temperatur von 80° C. nicht unwirksam wurde.

10 Meerschweinchen wurden 0·1 bis 8·0 ccm von älteren, 10 Minuten lang auf 80° C. erwärmten Bouillonculturen in die Bauchhöhle eingespritzt, 6 Thiere starben innerhalb der ersten beiden Tage, je 1 nach 3 bezw. 13 Tagen, 2 blieben am Leben. Von 5 Meerschweinchen, welchen keimfreies Filtrat von vorher nicht erwärmten Bouillonculturen in Mengen von 3·8 bis 8·0 ccm in die Bauchhöhle gespritzt war, starben 3 nach 3 bis 6 Tagen. Von der erwärmten Cultur tödteten 0.3 ccm ein 280 grm schweres Thier nach 27 Stunden, 0·1 ccm dagegen riefen bei einem gleich schweren Thier eine bis zu dem 20 Tage nach der Impfung erfolgten Tod andauernde Gewichtsabnahme hervor. Aehnliche Versuche wurden an 22 Mäusen angestellt. Je 11 Thiere erhielten erwärmte bezw. filtrirte Bouillonculturen in Mengen von 0·1 bis 0.5 ccm bezw. 0·2 bis 1·0 ccm in die Bauchhöhle gespritzt, von den ersteren starben 10 innerhalb 12 bis 36 Stunden, von den letzteren 7 innerhalb 1 bis 12 Tagen, 0·1 ccm bildeten im ersteren, 0·2 ccm im letzteren Fall für mittelgrosse Mäuse die kleinste tödtliche Dosis. Bei je 4 der mit erwärmten bezw. filtrirten Culturen geimpften Thiere stellte sich unmittelbar vor dem Tod ein eigenthümlicher lähmungsartiger Zustand ein. Die Thiere lagen

regungslos, wie in Narkose befindlich, da, und zwar meist auf der Seite, die schwache, stark verlangsamte Athmung war nur bei genauerem Zusehen zu erkennen. Sie reagirten auf stärkere Geräusche und machten beim Anfassen bezw. beim Kneifen des Schwanzes wohl Abwehrbewegungen, sie waren indess nicht im Stande, auf die Beine zu kommen und sich vorwärts zu bewegen, höchstens änderten sie unter starkem Zittern und Hin- und Hertaumeln ein wenig ihre Lage. Gewöhnlich blieben sie in der Lage, die man ihnen gab, liegen. Wenn man die Mäuse auf den Tisch legte und sie am Schwanze anfassend um ihre Längsaxe rollte, so setzten sie dem so gut wie gar keinen Widerstand entgegen. Dieser narkoseähnliche Zustand, auf den wir noch zurückzukommen haben, da er sich in ganz ähnlicher Weise bei den mit Enteritisculturen bezw. Enteritisgift behandelten Mäusen zeigte, dauerte je 1 Mal 1, $2^1/_2$, 3, 8, 12 bezw. 24 und 2 Mal 6 Stunden lang an. Er trat meist schon innerhalb 24 bis 48 Stunden, bei den mit Filtrat geimpften aber je 1 Mal erst am 3., 7. bezw. 13. Tage nach der Impfung ein, so dass, wenn man den narkoseähnlichen Zustand als Wirkung des eingespritzten Giftes auffasst, das Gift zuweilen erst nach mehrtägiger, ja einmal sogar 6- bis 12tägiger Incubation seine Wirkung entfaltete.

Genau denselben narkoseähnlichen Zustand hatten 2 mit der Pastete gefütterte Mäuse vor ihrem 7 Tage nach Beginn der Fütterung erfolgten Tod während 8 bezw. 10 Stunden dargeboten, und werden wir später erfahren, dass auch die mit Enteritisbacillen bezw. Enteritisgift geimpften Mäuse häufig diesen eigenthümlichen Lähmungszustand zeigten. Es mag ausdrücklich hinzugefügt sein, dass die erwärmten bezw. filtrirten Culturen sich bei der Aussaat als frei von entwickelungsfähigen Keimen erwiesen hatten und, dass bei allen mit den erwärmten bezw. filtrirten Culturen geimpften Thieren die mikroskopische und culturelle Untersuchung des Blutes keine Mikroorganismen, insbesondere keine coliähnlichen Bakterien ergab.

Dagegen fanden sich im Blut der mit der Pastete bezw. Culturen gefütterten bezw. geimpften Thiere die coliähnlichen Stäbchen gewöhnlich in ziemlich reichlicher Menge. Bei einer mit Pastete gefütterten Maus, welche nach 6 Tagen, sowie bei einer zweiten Maus, die in Folge Annagens dieses Mäusecadavers gleichfalls nach 6 Tagen eingegangen war, fanden sich ausser der hämorrhagischen Enteritis zahlreiche grauweisse Herde in der Leber, und ebensolche grauweisse nekrotische Herde in der Leber nnd Milz zeigte ein Meerschweinchen, welches erst 55 Tage nach der Impfung mit der Reincultur eingegangen war. Da mehrere der geimpften Mäuse über Nacht eingingen, ist es nicht ausgeschlossen, dass

auch noch die eine oder andere derselben den beschriebenen narkoseähnlichen Zustand vor dem Tod aufwies, ohne dass derselbe indess zu unserer Kenntniss gelangte.

Die aus Rind- und Schweinefleisch sowie Entenlebern unter Verwendung von Champignons in der üblichen Weise hergestellte und mit Speisegelatine überschichtete Leberpastete, welcher die coliähnlichen für Mäuse und Meerschweinchen stark infectiösen und giftbildenden, Bakterien entstammten, war 1895 in Grünthal am Kaiser-Wilhelms-Canal bei einem Gesellschaftsessen bis auf einen kleinen, von dem Kreisphysikus Herrn Dr. Wolf in Eckernförde zur Untersuchung eingesandten Rest, der äusserlich nichts Besonderes darbot, verzehrt worden. Alle 10 Personen, welche davon gegessen, erkrankten etwa 18 Stunden später an fieberhafter Gastroenteritis, bei Allen trat jedoch rasch Heilung ein. Ob das zur Herstellung der Pastete verwendete Fleisch etwa von kranken Thieren herstammte, liess sich trotz der sofort angestellten Ermittelungen nicht feststellen.

Die beiden Leberwürste, in welchen gleichfalls coliähnliche Stäbchen nachgewiesen waren, hatten im Verein mit sogenanntem Kopffleisch, d. h. einer Art Presskopf, in Glückstadt in der Zeit vom 11. bis 13. April 1896 in 7 Familien bei 28 Personen fieberhafte Gastroenteritis mit zum Theil blutigen Stühlen veranlasst. Die Krankheit begann 22 bis 48 Stunden nach dem Genuss der Wurst bezw. des Kopffleisches. Bei 3 Personen waren die Erscheinungen so heftig, dass ein tödtlicher Ausgang befürchtet wurde, der indess nicht erfolgte. Bei den Meisten trat nach etwa achttägiger Krankheit Genesung ein, bei Vielen blieb längere Zeit noch grosse Schwäche zurück. 5 Personen, die zum Theil während der Krankheit an Hautjucken gelitten, gaben an, dass sie nach der Genesung abgeschilfert hätten, oder wie sich zwei der am schwersten Erkrankten ausdrückten, „eine ganz neue Haut bekommen hätten“. Aerztlicherseits war diese Abschilferung indess nicht beobachtet worden. 2 Personen, welche die Wurst erst gegessen hatten, nachdem sie gebraten war, erkrankten nur ganz leicht.

Leberwürste sowie Kopffleisch stammten von einem elenden, mageren Schwein, welches offenbar krank gewesen war, indess liess sich dies durch die eingeleitete gerichtliche Untersuchung nicht sicher feststellen. Die Würste sollen unappetitlich, das Kopffleisch schmierig, die Leberwurst dunkelblau ausgesehen haben, beide stark gepfeffert gewesen sein, derart, dass nach Mittheilung des Hrn. Kreisphysikus Sanitätsrath Dr. Halling, dem ich die näheren Angaben über diese Fleischvergiftung verdanke, der Geselle, welcher mit den Würsten hausiren ging, es ablehnte, selbst davon zu essen, und die Leute vielfach erst zum Ankauf der Wurst überreden musste.

An den zur Untersuchung eingesandten beiden Leberwurstresten war ausser einer etwas dunkleren Färbung nur ein unangenehmer, aber kein fauliger Geruch aufgefallen.

Ob die Fleischvergiftungen in Grünthal und Glückstadt durch die coliähnlichen, aus der Pastete bezw. den Leberwurstresten direct gezüchteten Bakterien verursacht waren, die sich auch im Blut und den Organen der mit den Fleischwaaren geimpften bezw. gefütterten Thiere fanden, lässt sich mit Bestimmtheit nicht sagen. Wenn man bedenkt, dass die Leberwürste und das Kopffleisch bei ihrer Herstellung gekocht waren, und dass die Leberpastete sogar längere Zeit gebraten worden war, so liegt die Vermuthung nahe, dass die ursprünglich wohl im Fleisch vorhandenen Bakterien durch die Koch- bezw. Brathitze abgetödtet, die von ihnen bereits gebildeten Gifte aber nicht unwirksam geworden waren. Die nach dem Genuss der Pastete bezw. der Würste aufgetretenen Erkrankungen würden in ihrer Entstehung alsdann nur auf diese Gifte zurückzuführen sein. Von den von uns in der Pastete bezw. den Würsten nachgewiesenen Bakterien aber müsste man alsdann annehmen, dass sie erst nach Einwirkung der Back- bezw. Kochhitze in die Fleischwaaren gelangt seien, und dass sie zu den Erkrankungen entweder in gar keiner oder doch nur einer ganz untergeordneten Beziehung stehen. Ein solches nachträgliches Hineingelangen wird man sich aber nur schwer vorstellen können, und andererseits erscheint zum Mindesten die Vorstellung sehr gezwungen, dass Bakterien, die bei den Versuchsthieren regelmässig eine hämorrhagische Enteritis erzeugten, zu der fieberhaften Gastroenteritis der Menschen in gar keiner ursächlichen Beziehung gestanden haben sollten.

Näher liegt da jedenfalls die Erklärung, dass die Back- bezw. Kochhitze nicht ausgereicht hat, um die coliähnlichen Stäbchen in der Pastete bezw. den Würsten zu tödten, und das ist wohl denkbar, da es sich in beiden Fällen um voluminöse Theile handelte, und die Hitze bekanntlich nur langsam in das Fleisch eindringt. Man wird sich alsdann vorstellen dürfen, dass die der Hitzeeinwirkung entgangenen Bakterien sich weiterhin lebhaft vermehrten, die Fleischwaaren durchsetzten und, vielleicht unterstützt durch die schon vorhandenen Gifte, die Erkrankungen der Menschen nach dem Genuss derselben veranlassten. Es würde sich dann im vorliegenden Falle allerdings um Fleischvergiftungsbakterien handeln, die von den bisher beschriebenen wesentlich abweichen, die gar nicht in das oben gegebene Schema der Fleischvergiftungsbakterien hineinpassen, insofern sie nicht nur Trauben-, sondern auch Rohr- und Milchzucker vergähren, die Milch zur Gerinnung bringen, Indol bilden u. s. w. Nur eines der von Basenau (13) aus Fleisch gezüchteten

6 Bakterien würde sich unseren coliähnlichen Bakterien an die Seite stellen lassen.

Unsere Annahme, wonach die von uns isolirten coliähnlichen Bakterien die Fleischvergiftungen in den vorliegenden beiden Fällen veranlasst haben, hätte eine werthvolle Stütze erhalten, wenn es gelungen wäre, dieselben auch aus den Ausscheidungen der Kranken zu züchten. Leider waren aber alle Bemühungen, solche Ausscheidungen bezw. damit verunreinigte Wäsche u. s. w. für die Untersuchung zu erlangen, völlig erfolglos.

Von den beiden Fleischvergiftungen, bei denen der Nachweis der Gärtner'schen Enteritisbakterien gelang, ereignete sich die eine in Rumfleth bei Wilster, Kreis Steinburg, am 19. September 1892. Ich habe über dieselbe bereits bei einer früheren Gelegenheit kurz berichtet (29).

Eine nach dem Kalben erkrankte Kuh war nach 8tägiger Krankheit, die sich durch Verstopfung, Abmagerung und Versiegen der Milchsecretion zu erkennen gab, crepirt. Gegen die Verstopfung hatte ein Quacksalber Aloë mit Gentiana verabfolgt, ein Thierarzt war nicht zu Rathe gezogen, es liess sich daher auch nicht ermitteln, ob Fieber bestanden hatte. Der Abdecker, welchem man den Cadaver übergeben hatte, war der Meinung, dass das Fleisch unmöglich schädlich sein könne, „da die Kuh ja nur an Verstopfung gelitten", und „da zudem das Fleisch gut aussah", so ass er dasselbe an einem Sonntag Mittag mit seiner Frau, 3 Töchtern, 2 Schwiegersöhnen und 12 Enkelkindern, und zwar in der Form von Suppenfleisch. Alle 19 Personen, welche von dem Fleisch gegessen, erkrankten, sonst Niemand am Ort. Keiner der Erkrankten hatte das Fleisch roh gegessen. Einige bekamen nur leichten Durchfall, die anderen litten an starkem Erbrechen und heftigen Durchfällen, bei den Letzteren wurden Temperaturerhöhungen bis 39° und darüber, bei einer der erkrankten Frauen schmerzhafte Wadenkrämpfe beobachtet. Die Krankheit begann bei den Meisten schon am Nachmittag, bei Einigen erst in der darauf folgenden Nacht bezw. am nächsten Morgen. Die Stühle sollen dünnflüssig, von dunkelgrüner Farbe ohne Beimengung von Schleim oder Blut gewesen sein. Nach 2- bis 4tägigem Kranksein erfolgte bei Allen völlige Genesung. Am 21. September, 2 Tage nach der verdächtigen Mahlzeit und 4 Tage, nachdem das Thier crepirt war, schickte der Kreisphysikus Hr. Dr. Jessen in Itzehoe, dem ich die Mittheilungen über die Erkrankungen sowie über die Herkunft des Fleisches verdanke, ein etwa faustgrosses Stück von dem noch nicht zubereiteten Fleisch des gefallenen Thieres an das hygienische Institut ein. Dasselbe unterschied sich nach Farbe und Consistenz in keiner Weise von frischem Kuhfleisch, nur war ein leichter, süsslicher Geruch wahrzunehmen; dagegen fehlte Fäulnissgeruch und fiel es geradezu auf, dass ein solcher auch am 3. October an dem im Keller aufbewahrtem

Fleisch noch fehlte. Erst am 10. October war dasselbe von einem schmierigen Belag überzogen, und zeigte es jetzt auch fauligen Geruch.

In den sogleich nach der Ankunft im Institut hergestellten Deckglas-Ausstrichpräparaten, zu welchen unter den nöthigen Vorsichtsmaassregeln kleine Fleischstückchen aus der Tiefe entnommen wurden, fanden sich ausschliesslich Kurzstäbchen und zwar in ziemlich grosser Menge. Die gleichfalls damit angefertigten Aussaaten auf Agar und Gelatine ergaben eine Reincultur derselben Kurzstäbchen. Bereits am 3. Tage bildeten die Oberflächencolonieen auf der Gelatine über stecknadelkopfgrosse, grauweisse bis reinweisse saftige, manchmal rahmähnliche Tröpfchen, die bei schwacher Vergrösserung kreisrund oder bohnenförmig erschienen, eine ganz schwache graue Farbe, einen gleichmässigen Rand, sowie eine eigenthümliche, ziemlich grobe, aber gleichmässige Körnung darboten, wie sie zuweilen bei Bakterien der Friedländergruppe angetroffen wird. Die Körnung trat noch viel schärfer hervor wie an den Oberflächencolonieen der Photogramme, Figg. 1 u. 3 auf Taf. VI u. VII. Auch erschienen die Colonieen viel mehr durchscheinend, und fehlte der störende Reflex, der sich bei den Photogrammen am Rande der Colonieen findet. An älteren Colonieen wurde oft ein Einsinken der Mitte beobachtet, was zur Folge hatte, dass die Colonie hier ebenso durchscheinend wurde wie die Randpartie. Von einer solchen 3 Wochen alten Oberflächencolonie stammt das Photogramm Fig. 2 auf Taf. VI, welches neben der Körnung eine zweite Eigenthümlichkeit der Enteritiscolonieen wiedergiebt, nämlich die radiäre Streifung, die sich namentlich bei älteren Oberflächencolonieen fast regelmässig fand. Diese radiären Strahlen zeigten sich zuweilen in büschelförmiger Anordnung, namentlich in der durchscheinenden und körnigen Randzone der tiefgelegenen Colonieen. Letztere hatten eine runde, ovale bezw. wetzsteinförmige Gestalt und fielen durch ihre bräunliche Farbe und die grobe Körnung, die allerdings meist nur an der etwas durchscheinenden Randzone hervortrat, auf.

Untersuchte man bei stärkerer Vergrösserung, so erhielt man in den gefärbten Klatsch- bezw. Ausstrichpräparaten der jungen Colonieen Bilder, die sich von denjenigen, die man bei der Untersuchung gleichalteriger Typhus- bezw. Colicolonieen bekommt, nicht unterschieden. Waren aber die Colonieen älter als 2 Tage, so pflegten gewöhnlich die Stäbchen die Farbe nicht mehr gleichmässig anzunehmen, auch, wenn man zum Färben Auflösungen der Anilinfarben in Anilinwasser bezw. Carbollösungen benutzte und unter Erwärmen färbte. Es färbte sich dann bei den meisten Bakterien nur das eine Ende, bei solchen, die zu zweien zusammenlagen, die einander zugekehrten Enden. Derartig gefärbte Präparate machten auf den ersten Blick den Eindruck, als ob bei der Färbung irgend ein Ver-

sehen untergelaufen und daher die Färbung nur mangelhaft gelungen sei. Bei genauerem Zusehen ergab sich aber dann, dass diejenigen Theile, welche die Farbe angenommen hatten, auch intensiv gefärbt waren. Einzeln liegende Kurzstäbchen erinnerten alsdann an einen Siegelring, Doppelstäbchen konnten zunächst ein cylindrisches Stäbchen mit concaven Enden vortäuschen, bis man bei genauerem Zusehen an jedem Ende die ganz feine, gefärbte Halbkreislinie, welche den ungefärbten Pol umrandete, und ausserdem in der Mitte die ungefärbte feine Trennungslinie erkannte. Zuweilen war die Färbung an den Stäbchen auf einen rundlichen Punkt in der Mitte beschränkt, wie man dies ähnlich auch bei den Pestbakterien gar nicht so selten beobachten kann. An den mehr oder minder langen Fadenstücken, die sich ähnlich wie bei Typhus- bezw. Bacterium coli-Colonieen neben den Kurzstäbchen fanden, blieben nicht nur die freien Enden ungefärbt, sondern fanden sich auch mehrfach rundliche Lücken innerhalb des Fadens.

Die gefundenen Stäbchen färbten sich nicht nach Gram. Im hängenden Tropfen zeigten sie eine Lebhaftigkeit der Bewegung, die hinter derjenigen der Typhusbakterien in keiner Weise zurückblieb. Bei Anwendung der Löffler'schen Geisselfärbungsmethode sah man die Kurzstäbchen mit 4 bis 8 peritrich angeordneten Geisselfäden versehen.

Die Agarplatten entsprachen mikroskopisch so ziemlich den Gelatineplatten, Stich- und Strichculturen auf Gelatine und Agar waren am meisten Culturen von Bacterium coli zu vergleichen, nur dass die Auflagerungen weicher und saftiger, zuweilen rahmartig erschienen. Die Auflagerungen waren mehrfach annähernd so üppig wie beim Friedländer-Bacterium, und zeigte sich auch hier manchmal ähnlich wie bei jenem ein allmähliches Herabrutschen der Culturmassen von der schrägen Gelatineoberfläche der Strichculturen. Eine Verflüssigung der Gelatine kam dagegen nie vor.

Die Stäbchen wuchsen auf Kartoffeln ziemlich üppig, indem sie einen schmierigen gelblichen, bezw. schmutzig gelbbraunen Belag bildeten, manchmal verfärbte sich die Kartoffel in grösserer Ausdehnung bräunlich. Die Bouillon wurde gleichmässig getrübt, nicht selten kam es zur Bildung eines zarten Häutchens an der Oberfläche. Eine Indolbildung fand hier, sowie in Peptonkochsalzlösungen, in welchen die Stäbchen etwa gleich üppig gediehen wie in der Bouillon, nicht statt; die Culturen entwickelten reichlich Schwefelwasserstoff. In Milch wuchsen die Stäbchen üppig, ohne dass es jedoch zu einer Gerinnung derselben kam. Dagegen nahm die Milch mit der Zeit eine schwach alkalische Reaction an und wurde sie nach 1- bis 2 wöchentlichem Stehen im Brütapparat durchscheinend, indem zugleich die weisse Farbe durch eine schmutzig graugelbe ersetzt wurde.

Dieses Durchscheinendwerden der Milch, offenbar durch eine allmähliche Peptonisirung der Milch bewirkt, war, wie schon erwähnt, auch bei dem Gärtner'schen Enteritisbacterium von uns beobachtet worden. Es zeigte sich aber auch bei zwei anderen von uns isolirten Enteritisbakterien, bei dem Moorseeler und Genter Enteritisstamm von van Ermengem, der letzteres auch bereits angegeben hat, sowie bei dem Kaensche'schen und Günther'schen Fleischvergiftungsbacterium und dem B. morbificans von Basenau. An mit Typhus geimpften Milchculturen trat die Erscheinung erst nach mehrwöchentlichem Aufenthalt im Brütapparat zu Tage.

In Lackmusmolke war in den ersten Tagen eine schwache Röthung zu constatiren, dann trat Entfärbung ein, und weiterhin zeigte sich Blaufärbung, die von der Oberfläche beginnend, sich allmählich über die ganze Molke erstreckte. In Traubenzuckerlösungen fand eine lebhafte Gasentwickelung unter Säurebildung statt. Auch in nicht mit Traubenzucker versetzten Gelatine-, Agar- und Bouillonnährböden wurde zuweilen eine, allerdings nur geringe Gasentwickelung durch die Kurzstäbchen hervorgerufen. Wie spätere Untersuchungen ergaben, sind dieselben nicht im Stande, Milch- oder Rohrzucker zu vergähren. In den eiweissfreien Lösungen von Fränkel und Maassen kam es auch bei Glycerinzusatz nur zu einem ganz minimalen Wachsthum, während in denselben Lösungen das Typhusbacterium überhaupt nicht, das Bacterium coli commune dagegen üppig gedieh.

Genau dieselben Kurzstäbchen wurden nun aber auch in dem Blut und den Organen derjenigen Versuchsthiere angetroffen, welche mit dem Rumflether Kuhfleisch gefüttert bezw. geimpft und in Folge dessen regelmässig einer tödtlichen Infection erlegen waren. In Ausstrichen aus dem Blut und den Organen waren sie mit ganz vereinzelten Ausnahmen in toto gefärbt und gewöhnlich von einem ungefärbten bezw. nur blass gefärbten Hof umgeben. Sie erschienen hier ebenso wie die in den gefärbten Kuhfleisch-Deckglasausstrichen beobachteten, nicht unbeträchtlich grösser als diejenigen in den Culturen. Auf Schnitten der Milz, Leber und Nieren zeigten sie sich in Haufen angeordnet, die gewöhnlich in den Capillaren lagen, wobei letztere zuweilen mit den Bakterien förmlich vollgestopft erschienen, wie dies das Photogramm des Nierenschnittes einer Maus, Fig. 5 (Taf. VII), erkennen lässt. Aussaaten des Blutes sowie der Organe der der Impfung erlegenen Thiere auf Gelatine lieferten wieder die schon durch ihre Körnung von anderen ähnlichen Kurzstäbchen leicht zu unterscheidenden Enteritiscolonieen. In Betreff der Thierversuche ist das Nachstehende zu erwähnen.

Mit dem Rumflether Kuhfleisch gefüttert wurden zwei Mäuse und zwei Meerschweinchen. Die ersteren starben nach 6 bezw. 7, das eine

Meerschweinchen nach 12 Tagen. Das zweite Meerschweinchen erschien bis zum 15. Tag nach der Fütterung nicht krank, es erhielt jetzt 0·1 ccm von einer Bouilloncultur der aus dem Fleisch isolirten Enteritisbakterien in die Mundhöhle eingestrichen, welche es sofort verschluckte. Es starb nunmehr 9 Tage nach der zweiten, 23 Tage nach der ersten Fütterung.

Erst 2 Tage vor dem Tode erschienen die Thiere deutlich krank, und zwar litt das erste Meerschweinchen an Durchfall, sonst machte sich an den Thieren nur zunehmende Schwäche und Hinfälligkeit bemerkbar. Bei den Mäusen waren ausserdem die Augen mit Secret verklebt. Bei dem ersten Meerschweinchen war der ganze Darm hyperämisch, bei den anderen Thieren beschränkte sich die Blutfülle nur auf den Dünndarm, welcher mit flüssigem Inhalt reichlich gefüllt war, während bei dem ersten Meerschweinchen auch der Coecuminhalt ein dünnbreiiger war. Bei allen vier Thieren wurden mehr oder weniger ausgedehnte Hämorrhagieen in den Lungen, bei dem zweiten Meerschweinchen auch Blutaustretungen unter der Darmserosa gefunden. Aus dem Herzblut aller vier Thiere, ausserdem aber auch noch aus dem Coecuminhalt des ersten und dem Dünndarminhalt des zweiten Meerschweinchens wurden die Enteritisbakterien gezüchtet.

Vier Meerschweinchen, denen $^1/_2$ bis 1 ccm einer Aufschwemmung des Rumflether Fleisches in die Bauchhöhle gespritzt war, starben nach 2, 3, 4 bezw. 7 Tagen, eine Maus, die 0·1 ccm davon erhalten hatte, schon nach 4 Tagen. Sofort nach der Einspritzung erschienen die Thiere krank, sie sassen träge mit struppigem Fell im Käfig und frassen nur wenig. Bei der Maus waren wieder die Augen mit Secret verklebt, bei den Meerschweinchen machte sich Schmerzhaftigkeit des Abdomens auf Druck bemerkbar. Die Obduction ergab bei allen Thieren serofibrinöse Peritonitis, bei der Maus ausserdem Milzvergrösserung sowie kleine, grauweisse nekrotische Herde in der Leber. Aus dem Herzblut der Thiere wurde in jedem einzelnen Falle wieder das Enteritisbacterium gezüchtet.

Drei mit dem Fleisch gefütterte Mäuse, von denen zwei ausserdem mit Fleisch an der Schwanzwurzel geimpft waren, die dritte aber etwas von der Fleischaufschwemmung in die Bauchhöhle eingespritzt erhalten hatte, gingen am 6. Tage nach der Impfung und Fütterung ein. Hier war an den Mäusen vor dem Tode zum ersten Male ein lähmungsartiger Zustand aufgefallen, insofern die Thiere, wenn man sie auf den Rücken legte, nicht im Stande waren, wieder auf die Beine zu kommen. Alle drei Thiere zeigten Milzvergrösserung sowie die Leber mit nekrotischen Herden durchsetzt, eine Veränderung, die weiterhin bei allen mit Enteritisstäbchen geimpften bezw. gefütterten Mäusen beobachtet wurde, sofern die Thiere nicht schon in den ersten 4 Tagen nach der Infection starben.

Bei einer der an der Schwanzwurzel geimpften Mäuse fand sich Eiter an der Impfstelle, der die Enteritisbacillen enthielt, die bei jedem Thier übrigens auch aus dem Herzblut gezüchtet wurden.

Auch mit dem längere Zeit aufbewahrten Kuhfleisch wurden noch einige Versuche ausgeführt, um zu erfahren, ob die inzwischen eingetretene Fäulniss die Enteritisbacillen vernichtet hatte. Am 30. November, also 74 Tage nach dem Crepiren der Kuh, erhielten ein Kaninchen, ein Meerschweinchen sowie eine Maus 1·0 bezw. 0·5 bezw. 0·1 ccm von einer neuerdings hergestellten Fleischaufschwemmung in die Bauchhöhle eingespritzt. Während das Kaninchen und das Meerschweinchen nicht erkrankten, ging die Maus 8 Tage später ein; es fanden sich ausser peritonitischen Erscheinungen wieder Milzvergrösserung sowie Herde in der Leber, auch liessen sich die Enteritisbakterien aus dem Herzblut züchten. Es hatten sich mithin die Enteritisbakterien bis dahin in dem Fleisch lebensfähig erhalten.

Mit Hülfe der Organe bezw. der Körpersäfte der der Infection mit dem Kuhfleisch erlegenen Thiere gelang es leicht, weitere Versuchsthiere tödtlich zu inficiren. So starben Mäuse, denen kleine Stückchen Lunge bezw. Milz, bezw. 1 Oese Herzblut der der Fütterung mit Fleisch erlegenen Meerschweinchen oder Mäuse unter die Haut an der Schwanzwurzel gebracht wurden, schon nach 3 bis 4 Tagen, und genügte die minimale Menge von Gewebssaft, die an einem dünnen, bisher noch nicht benutzten und daher noch glatten Platindraht beim Einstechen in die Leber eines der verendeten Meerschweinchen hängen blieb, schon, um eine Maus zu tödten. Die letztere starb allerdings erst 12 Tage, nachdem ihr dieser in die Lebersubstanz getauchte Platindraht nur auf einen Augenblick 1 cm weit unter die Rückenhaut geschoben worden war. Von dem Bauchhöhlenexsudat eines der Impfung mit dem Fleisch erlegenen Meerschweinchens genügten schon 1 bezw. 2 Tropfen, um Mäuse bei Einspritzung in die Bauchhöhle bezw. unter die Rückenhaut nach 2 bezw. 4 Tagen zu tödten. Eine Maus bekam an einem Tag statt des Futters ein Stück von dem Cadaver einer der Impfung mit dem Fleisch erlegenen Maus vorgesetzt, sie ging 8 Tage später ein. Bei allen diesen nach der Impfung bezw. Fütterung mit den Organen, Blut oder Körpersäften eingegangenen Versuchsthieren waren dieselben Krankheitserscheinungen beboachtet und auch derselbe Obductionsbefund festgestellt worden, wie bei den mit dem Kuhfleisch direct inficirten Thieren. In jedem einzelnen Fall war durch die Cultur der Enteritisbakterien aus dem Herzblut der Beweis erbracht, dass die Thiere der Infection mit diesen Stäbchen erlegen waren.

Zu ganz ähnlichen Resultaten führten die Infectionsversuche mit den Reinculturen. Verwendet wurden hierzu sowohl die aus dem

Kuhfleisch direct isolirten, als auch diejenigen, welche aus dem Blut und den Organen der der Infection mit dem Fleisch erlegenen Thiere erhalten waren. Nur bei etwa 4 Procent der zahlreichen, im Laufe der Zeit ausgeführten Uebertragungsversuche blieb die Impfung der Mäuse bezw. Meerschweinchen ohne Erfolg. Von Bouillonculturen genügten schon 0·05 ccm, um bei subcutaner Einspritzung nach 3 Tagen Mäuse zu tödten, 0·1 ccm subcutan tödteten die Mäuse regelmässig schon innerhalb 24 Stunden, die gleiche Menge bei Einspritzung in die Bauchhöhle schon vor Ablauf von 20 Stunden. Von 2tägigen Agarculturen genügte in mehreren Fällen schon $^1/_{200}$ einer 1·65 mg Culturmasse fassenden Oese, um Mäuse bei Einspritzung in die Bauchhöhle vor Ablauf von 24 Stunden zu tödten. Bei Meerschweinchen erfolgte der Tod meist schon innerhalb 24 Stunden, wenn ihnen 0·1 ccm Bouilloncultur bezw. $^1/_{100}$ Oese Agarcultur in die Bauchhöhle gespritzt wurde. Bei $^1/_{200}$ Oese starb ein 400 grm schweres Thier einmal erst nach $7^1/_2$ Tagen, ein 200 grm schweres Thier dagegen, welchem $^1/_4$ Oese einer Agarcultur unter die Haut gespritzt worden war, einmal schon vor Ablauf von 16 Stunden. Im Allgemeinen hatte man den Eindruck, als ob sich jüngere Thiere verhältnissmässig leichter inficiren liessen als ältere. Ausserdem schienen trächtige Thiere in höherem Maasse empfänglich zu sein. Dass auch Ziegen der Infection mit den Rumflether Enteritisbakterien zugängig sind, ergab sich bei den später ausgeführten Immunisirungsversuchen, wobei eine Ziege auf die Einspritzung dieser Enteritisculturen fast regelmässig mit hohem Fieber und starker Gewichtsabnahme reagirte und schliesslich trotz mehr als 2jähriger Vorbehandlung der subcutanen Einspritzung von 6 Oesen einer 2tägigen Agarcultur innerhalb von 6 Tagen erlag.

Gefüttert wurden mit einer 12 Tage alten Bouilloncultur der aus dem Fleisch isolirten Enteritisstäbchen ein Huhn, eine Taube, ein Kaninchen und ein Meerschweinchen, indem den Thieren $^1/_{10}$ ccm von der Cultur in die Maulhöhle gebracht wurde. Obwohl nun alle Thiere die Cultur sofort herunterschluckten, gingen doch nur die Taube und das Meerschweinchen nach 4 bezw. 9 Tagen ein. Bei der Taube war der Darm nicht nur hyperämisch, sondern es zeigten sich auch an mehreren Stellen kleine Blutungen unter die Serosa sowie in die Schleimhaut des Darmes. Bei dem Meerschweinchen, welches 14 Tage vor der Fütterung mit Bouilloncultur schon einmal mit dem Kuhfleisch gefüttert worden war (siehe oben), blieb es zweifelhaft, ob der tödtliche Ausgang auf die Fütterung mit dem Fleisch oder mit der Cultur bezogen werden musste.

Mit Mäusen wurden Infectionsversuche durch Verfütterung der Rumflether Enteritisculturen nicht angestellt, doch wies die bei einer Anzahl von Mäusen spontan erfolgte Infection mit diesen Enteritisbakterien

darauf hin, dass schon geringe Mengen derselben bei Mäusen vom Digestionstractus aus eine tödtliche Infection bewirken können. Es erkrankten nämlich Ende Februar und Anfang März 1893, nachdem im Institut etwa 4 Wochen lang nicht mit den Enteritisculturen gearbeitet, insbesondere auch keine Thierversuche damit angestellt worden waren, fünf Mäuse, die vor längerer Zeit mit Culturen des Vibrio helkogenes bezw. Vibrio Finkler geimpft waren, unter denselben Krankheitserscheinungen wie die mit Enteritisbakterien geimpften Mäuse, und lieferten dieselben auch den gleichen Obductionsbefund. Bei allen fünf eingegangenen Thieren wurden zudem noch die Enteritisbakterien aus dem Herzblut gezüchtet. Die weitere Nachforschung ergab, dass die als Mäusekäfige benutzten Glasgefässe, in welchen früher Enteritismäuse gewesen waren, nach deren Tod nur einfach einmal mit Wasser gespült, trockengewischt, und dann für die mit Vibrionenculturen geimpften Mäuse wieder benutzt worden waren. Offenbar waren bei dieser Behandlung Enteritisbakterien an der Glaswandung haften geblieben, von denen dann später die Spontaninfection der Vibrionenmäuse ausging; denn als weiterhin die benutzten Mäusegläser vor der Wiederbenutzung nach jedesmaliger Reinigung erst noch mit Sublimatlösung behandelt worden waren, blieben Spontaninfectionen mit Enteritisbakterien fortab aus. Ausdrücklich hervorheben möchte ich, dass nur in den Glasgefässen gewesene Versuchsmäuse von der Enteritisinfection befallen wurden, nicht aber die in einem Holzkäfig untergebrachten Zucht- bezw. Vorrathsmäuse. Die Vibrionenculturen waren bei zwei Mäusen in eine Hauttasche an der Schwanzwurzel eingestrichen gewesen, während den drei übrigen die Culturaufschwemmungen unter die Rückenhaut gespritzt worden waren. Eines der letzteren bekam in Folge dessen ein Hautgeschwür, in welchem Anfangs der Vibrio helkogenes, in den letzten beiden Tagen vor dem Tode aber die Enteritisbakterien durch Cultur mehrfach nachgewiesen waren. Bei dieser Maus sowie auch bei den beiden an der Schwanzwurzel geimpften liegt die Annahme nahe, dass die Enteritisbakterien von der Glaswandung in die Wunden bezw. Geschwüre gelangt waren und von hier aus die Allgemeininfection veranlasst hatten. Dagegen erscheint für die anderen beiden Mäuse die Annahme wohl zulässig, dass sie die Enteritisbacillen beim Belecken der Glaswandung bezw. beim Verzehren der mit der Glaswandung in Berührung gewesenen Nahrung in sich aufgenommen haben.

Sofern die Mäuse nicht innerhalb der ersten Tage eingingen, machten sich Krankheitserscheinungen gewöhnlich erst 2 bis 3 Tage vor ihrem Tode bemerkbar. Die Thiere wurden alsdann träge, sie bekamen ein struppiges Fell, ihre Augen waren mit Secret verklebt und sie verweigerten die Nahrung. Weiterhin stellte sich eine mehr und

mehr zunehmende Schwäche namentlich der Hinterbeine ein, so dass die Thiere schliesslich mit dem Leibe auf dem Boden lagen und bei der Berührung bezw. beim Kneifen des Schwanzes sich nur langsam unter grosser Anstrengung und unter fortwährendem Zittern und Taumeln vorwärts bewegen konnten. Schliesslich war auch das nicht mehr möglich, sie blieben alsdann in jeder Lage, die man ihnen gab, wie leblos liegen; dabei dauerte es meist noch viele Stunden, ehe der Tod eintrat. Einige Male erschienen die Mäuse sofort nach der Impfung krank, sie erholten sich alsdann aber wieder und machten mehrere Tage lang wieder einen ganz gesunden Eindruck, bis dann die regelmässig in zwei bis drei Mal 24 Stunden zu Ende führende Krankheit einsetzte.

Die inficirten Meerschweinchen erschienen bei raschem Verlauf schon wenige Stunden nach der Impfung traurig und träge, sie bekamen ein struppiges Aussehen und frassen nicht mehr. Auf den Rücken gelegt, verharrten sie gewöhnlich längere Zeit in dieser Lage, ehe sie wieder auf die Beine kamen. Unter Erscheinungen zunehmender Schwäche gingen sie dann gewöhnlich ein, dem Tode selbst gingen oft klonische Krämpfe vorauf. Bei langsamerem Verlauf erschienen die Thiere zunächst nicht krank, doch machte sich eine beträchtliche, gleichmässig fortschreitende Gewichtsabnahme bemerkbar, die in einigen Fällen einen sehr hohen Grad erreichte. Auch hier erschien das Thier alsdann gewöhnlich erst in den letzten Tagen vor dem tödtlichen Ausgang deutlich krank.

Bei der Obduction der subcutan geimpften Mäuse und Meerschweinchen fand sich, sofern der Verlauf der Infection ein langsamer war, mehrfach Eiterung mit Enteritisbacillen im Eiter, an der Impfstelle, und erwiesen sich alsdann auch die zugehörigen Lymphdrüsen geschwollen, sowie die Unterhautgefässe stärker injicirt. Bei Meerschweinchen kam es mehrmals nach subcutaner Impfung am Bauch, einmal auch nach intraperitonealer Einverleibung zu einem starken hämorrhagischen Oedem des Unterhautgewebes an der ganzen unteren Körperhälfte. Derartige Meerschweinchen boten makroskopisch ein ganz ähnliches Bild dar, wie Meerschweinchen, die der Impfung mit malignem Oedem erlegen sind. In der Oedemflüssigkeit waren die Enteritisbakterien in reichlicher Menge nachzuweisen.

Nach Impfung in die Bauchhöhle fanden sich die Zeichen einer serofibrinösen Peritonitis, einige Male auch etwas Erguss in den Pleurahöhlen, sowie Oedem des Mediastinum anticum.

Bei den nach der Fütterung eingegangenen Thieren und auch bei zwei der der Spontaninfection erlegenen Mäuse war eine stärkere Hyperämie des mit einer dünnen gelblichen Flüssigkeit stark angefüllten Dünndarms, zu beobachten. Auch bei den intraperitoneal geimpften Thieren fand

sich dünnflüssiger Inhalt in grösserer Menge regelmässig, bei den subcutan geimpften dagegen nur zuweilen im hyperämischen Dünndarm.

Die gefütterten Thiere zeigten meist Blutaustretungen unter die Darmserosa, manchmal auch kleine Blutungen in das Darmlumen. Auch bei den übrigen Thieren fanden sich in der Regel mehr oder weniger ausgedehnte hämorrhagische Stellen in den Lungen sowie zuweilen kleine Blutaustretungen unter der Serosa der Bauchwandung und der Leber. Hatte die Infection einen langsamen Verlauf genommen, dann erwies sich die Milz deutlich, z. Th. recht beträchtlich vergrössert, auch zeigten sich in der Leber sowohl der Mäuse als der Meerschweinchen alsdann regelmässig weissgraue punkt- bis stecknadelkopf-, bei den Meerschweinchen oft fast hanfkorngrosse nekrotische Herde.

Nur bei solchen Thieren, die erst spät nach der Impfung eingegangen waren, gelang es zuweilen nicht, die Enteritisbakterien im Blut mikroskopisch nachzuweisen, in Aussaaten von diesem Blute gingen aber fast regelmässig noch die charakteristischen Enteritiscolonieen auf. In den gefärbten Organausstrichen der Milz und Leber wurden die gewöhnlich von einem Hof umgebenen Bakterien fast nie vermisst. In Schnitten der Milz, Leber und Nieren fanden sie sich in herdweiser Anordnung, ganz ähnlich wie bei den mit dem Fleisch direct inficirten Thieren. (Siehe Fig. 5, Taf. VII.)

Wie erwähnt, waren die Erkrankungen in Rumfleth nach dem Genuss des gekochten Fleisches und der Suppe erfolgt. Da nun in dem ungekochten Fleische nur die Enteritisbakterien aufzufinden waren, von denen es sich zeigte, dass sie keine Sporen bilden und dass sie durch Temperaturen von 65 und 70° C. schon in 10 Minuten abgetödtet werden, so erschien die Annahme wohl berechtigt, dass die Fleischvergiftungen in Rumfleth nicht durch die lebenden Enteritisbakterien, sondern vielmehr durch ein von denselben gebildetes Gift, welches die Kochhitze verträgt, hervorgerufen sein mussten. In der That nun bildeten die Rumflether Enteritisbakterien in den Culturen ein Gift, welches das Kochen verträgt. Mäuse, denen 5 Minuten lang im strömenden Dampfe erhitzte Bouillon- bezw. Milchculturen in Mengen von 0·5 ccm in die Bauchhöhle gespritzt wurden, starben nach 16 bis 22 Stunden, auch ging eine Maus nach 62 Stunden ein, welcher von einer älteren Bouilloncultur, nachdem dieselbe 10 Minuten lang auf 80° erhitzt war, 0·3 ccm in die Bauchhöhle gespritzt waren. Bei einem 248 grm schweren Meerschweinchen, welches von einer auf 80° 10 Minuten lang erhitzten Bouilloncultur 10 ccm in die Bauchhöhle gespritzt bekommen hatte, fiel die Körpertemperatur innerhalb 1 Stunde auf 33·6° C. und nach weiteren 6 Stunden auf 31°, hochgradige Schwäche, Muskelzittern, gesteigerte Athmungsfrequenz (148 in

der Minute) vervollständigten das Vergiftungsbild, welchem das Thier bereits in der folgenden Nacht erlag. Bei den der Impfung mit erhitzten Bouillonculturen erlegenen Thieren bildeten Durchfall und lähmungsartige Schwäche die hervorstechendsten Krankheitserscheinungen, bei der Maus, welche mit 0·3 ccm von auf 80° erhitzter Bouilloncultur geimpft war, bestand 12 Stunden lang vor dem Tode ein narkoseähnlicher Zustand, derart, dass die Maus wie leblos auf der Seite lag und in jeder Lage, in welche man sie brachte, liegen blieb.

Auch wenn in der Bouilloncultur durch Chloroformzusatz die Bakterien getödtet und das Chloroform später wieder verjagt wurde, wirkte die Cultur giftig auf Mäuse, indem 0·5 ccm intraperitoneal eingespritzt kräftige Mäuse in 16 bezw. 21 Stunden tödteten. In gleicher Weise liessen sich mit den aus den Bouillonculturen abfiltrirten Bakterien sowie mit den auf Agar gewachsenen Culturmassen, wenn man dieselben durch Hitze abtödtete und alsdann in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt in den Bauch einspritzte, Meerschweinchen und Mäuse tödten. Drei Mäuse bekamen je 0·3 ccm einer Bakterienaufschwemmung, die theils 15 Minuten strömendem Dampf von 100°, theils $^5/_4$ Stunden einer Temperatur von 55°, theils $^3/_4$ Stunden einer solchen von 60° C. ausgesetzt war. Alle drei erkrankten mit Durchfall, Verklebtsein der Augen und hochgradiger Schwäche; zwei erlagen nach ca. 28 Stunden, die grösste Maus, welche die auf 100° erhitzte Aufschwemmung erhalten, erholte sich wieder. Von einer zweiten Aufschwemmung der aus einer Bouilloncultur abfiltrirten Bakterien tödteten 0·2 ccm eine Maus nach $8^1/_2$ Stunden, und die gleiche Menge der 20 Minuten lang im strömenden Dampfe behandelten Aufschwemmung ein gleichschweres Thier in 10 Stunden.

5 Oesen (à 1·65 mg) einer 2 tägigen Agarcultur in 2 ccm Bouillon aufgeschwemmt und nach 5 Minuten langer Erhitzung im strömenden Dampfe einem 225 grm schweren Meerschweinchen in die Bauchhöhle gespritzt, führten in 6 Stunden den Tod herbei, und ein 324 grm sowie ein 348 grm schweres Meerschweinchen, welchen 10 Minuten lang auf 80° erhitzte Aufschwemmungen von 1 Oese bezw. $^1/_{10}$ Oese der Agarcultur in die Bauchhöhle eingespritzt worden waren, gingen beide nach 9 Tagen ein. Bei dem ersteren Thiere fanden sich dieselben grauweissen nekrotischen Herde in der Leber, wie sie nach der Impfung von lebenden Bakterien bei langsamem Verlaufe der Infection regelmässig gefunden wurden, und bei dem letzten Thiere wurde festgestellt, dass das Körpergewicht von 348 grm auf 305 grm herabgegangen war.

Dass die von den Rumflether Enteritisbakterien gebildeten Giftstoffe in den Bouillonculturen zum Theil auch in Lösung übergehen, liessen die nachstehenden Versuche erkennen.

Drei Mäuse, denen am 12. October 1892 von dem keimfreien Filtrat einer 6- bezw. 7tägigen Bouilloncultur 1·0, 0·1 bezw. 0·1 ccm in die Bauchhöhle gespritzt wurden, gingen nach 65 Minuten, bezw. innerhalb 18 bezw. 20 Stunden ein, und 0·1 ccm des Filtrates einer 1tägigen Bouilloncultur tödteten eine kleine Maus bei Einspritzung in die Bauchhöhle schon nach $11^1/_2$ Stunden. Die Verfütterung des keimfreien Filtrates der 6tägigen Bouilloncultur an eine kleine Maus blieb allerdings ohne Wirkung.

Als etwas später (am 23. October 1892) zwei gleichgrossen Mäusen von dem keimfreien Filtrat einer 10tägigen Bouilloncultur 0·1 bezw. 0·2 ccm intraperitoneal eingespritzt wurden, erkrankte nur die Maus, welche 0·2 ccm bekommen, und zwar sogleich nach der Einspritzung unter den Erscheinungen grosser Schwäche sowie mit Durchfall. Sie wurde 42 Stunden nach der Impfung todt aufgefunden. Auch die übrigen der Impfung mit dem keimfreien Filtrat erlegenen Mäuse waren jedes Mal alsbald nach der Einspritzung schwer erkrankt. Struppiges Aussehen, verklebte Augen, lähmungsartige Schwäche, so dass sie sich nur mit grosser Anstrengung unter Zittern und Taumeln vorwärts bewegen konnten, häufigere Ausleerungen bildeten die wesentlichsten Krankheitserscheinungen. Bei der Obduction fand sich ausser peritonitischen Erscheinungen eine stärkere Hyperämie und Füllung des Dünndarmes.

Von dem für Mäuse giftigen Filtrat der 7tägigen Bouilloncultur wurden einem 970 grm schweren Kaninchen 1 ccm und einem 350 grm schweren Meerschweinchen 0·5 ccm in die Bauchhöhle gespritzt. Das Meerschweinchen machte eine Zeit lang einen kranken Eindruck, erholte sich aber rasch wieder, bei dem Kaninchen wurde ein rascher Abfall der Rectumtemperatur auf 36·5° C., sowie eine lähmungsartige Schwäche des Hintertheiles festgestellt, die aber ebenso wie der Temperaturabfall rasch vorüberging, so dass das Thier nach einigen Stunden wieder völlig gesund erschien. Als nun demselben Kaninchen 2 Tage später 3 ccm von dem keimfreien Filtrat einer 21tägigen Bouilloncultur eingespritzt worden waren, ging das Thier nach 28 Stunden ein. Sogleich nach der Einspritzung sank die Rectumtemperatur von 38·1° innerhalb $1^1/_2$ Stunden auf 33·2°, auch machte sich sehr bald wieder eine lähmungsartige Schwäche des Hintertheiles bemerkbar.

Ging aus den mitgetheilten Versuchen hervor, dass die Enteritisbakterien in Bouillonculturen ein lösliches, namentlich für Mäuse und Kaninchen wirksames Gift bildeten, so gewann man bald den Eindruck, dass die in Lösung übergehende Giftmenge bei den einzelnen Culturen eine schwankende war, und dass die Giftbildung bei der Fortzüchtung des Organismus rasch abnahm. So betrug am 26. October bei einer

9tägigen Bouilloncultur die Giftwirkung kaum noch den zehnten Theil von der bei den zuerst verwandten Bouillonculturen festgestellten. Als nämlich einer Maus 0·1 ccm von dem im Vacuum bei 35° C. auf den zehnten Theil eingeengten Filtrat dieser 9tägigen Cultur eingespritzt war, erkrankte sie wohl alsbald schwer und lag sie ca. 24 Stunden hindurch fast wie leblos im Käfig, sie erholte sich dann aber verhältnissmässig rasch wieder vollständig.

Um zu erfahren, wie die Hitze auf das Gift einwirkt, wurde ein Theil dieses eingeengten Filtrates 20 Minuten hindurch dem strömenden Dampfe von 100° ausgesetzt. Als hierauf einer mit der vorigen gleichschweren Maus 0·2 ccm davon in die Bauchhöhle gespritzt wurden, erkrankte sie kaum. Es hatte demnach den Anschein, als ob das von den Rumflether Bakterien gebildete Gift durch die 20 Minuten lange Einwirkung des strömenden Dampfes unwirksam geworden wäre. Indess zeigten die weiterhin ausgeführten Versuche, die in der Tabelle I (nächste Seite) enthalten sind, dass das von den Rumflether Enteritisbakterien in den Bouillonculturen gebildete Gift wohl durch die Einwirkung der Siedehitze geschädigt wird, dass diese Schädigung sich aber erst nach länger dauernder Einwirkung des Dampfes nachweisen lässt. Das 30 Minuten lang dem strömenden Dampfe ausgesetzte Filtrat wirkte auf die Maus Nr. 2 annähernd ebenso, wie das nicht erhitzte Filtrat bei der Maus Nr. 1, und die 10, 20 bezw. 30 Minuten lange Erhitzung des Filtrates brachte bei den Mäusen Nr. 6, 7 und 8 jedenfalls keine schwächere Giftwirkung hervor, wie das nicht erhitzte Filtrat bei der Maus Nr. 3. Dagegen hatte die einstündige Einwirkung des Dampfes zur Folge, dass das Thier (Nr. 9) der Vergiftung erst viel später erlag, und mit dem 2 Stunden lang erhitzten Filtrat konnte die Maus Nr. 10 überhaupt nicht mehr getödtet werden. Dass das Gift durch 5 Minuten langes Kochen nicht unwirksam wird, lehrt auch der mit der Maus Nr. 19 angestellte Versuch. Wie die Versuche an den Mäusen Nr. 11 bis 18 erkennen lassen, wurde das in den Bouillonculturen gebildete Gift durch Zusatz kleiner Mengen von Carbolsäure sowie durch Alkohol nicht in erkennbarer Weise geschädigt, es vertrug auch die Austrocknung im Exsiccator bei 20° C., sowie die Aufbewahrung im Dunkeln bei Temperaturen von 10° bezw. 37° C. und die Einwirkung des diffusen Tageslichtes 17 Tage hindurch, ohne an Wirksamkeit nennenswerth einzubüssen, während dagegen die $10^1/_2$stündige Einwirkung der Novembersonne das Gift so weit abschwächte, dass die Maus wohl noch schwer erkrankte, aber mit dem Leben davon kam. Bei allen mit den eingeengten Culturfiltraten geimpften Mäusen, welche sich in der Zusammenstellung finden, wurde, sofern sie nach der Einspritzung schwer erkrankten, häufige dünnbreiige Darmausleerungen

Tabelle I.

Nr. d. Thieres	Körpergewicht der Maus in grm	Menge ccm	Bezeichnung der in die Bauchhöhle eingespritzten Flüssigkeit	Ausgang	Bemerkungen
			A. Auf den zehnten Theil eingeengtes Bouillonculturfiltrat.		
			a) Filtrat I von 11 täg. Cultur.		
1	gross	0·5	unverändert	stirbt in 12 Stunden	
2	„	0·5	30 Min. im strömend. Dampf	„ „ 11 „	
			b) Filtrat II von 9 täg. Cultur.		
3	gross	0·5	unverändert	stirbt in $<$ 12 Std.	
4	19·6	0·3	„	„ „ 11—20 „	
5	14	0·1	„	bleibt leben	nur wenig erkrankt.
6	18·7	0·5	10 Min. im ström. Dampf	stirbt nach 7³/₄ Std.	
7	20·5	0·5	20 „ „ „	„ „ 8¹/₃ „	
8	18·5	0·5	30 „ „ „	„ „ 8¹/₆ „	
9	17	0·5	60 „ „ „	„ „ 25¹/₂ „	
10	17	0·5	120 „ „ „	bleibt leben	nur kurze Zeit nach der Einspritzung krank.
11	[1]	0·5	mit Carbolsäure im Verhältniss von 1:400 versetzt	stirbt nach 8—17 Std.	
12		0·3	mit der 4fachen Menge Alkohol versetzt, Alkohol vor der Einspritzung im Vacuum wieder verjagt	„ „ 3¹/₂ „	kein Durchfall.
13		0·225		„ „ 20¹/₂ „	„ „
14		0·50	10¹/₂ Stunden im directen Sonnenlicht	bleibt leben	2 Tage lang krank, während 12 Stunden narkoseähnl. Zustand.
15		0·45	17 Tage hindurch im diffusen Tageslicht bei 20° C.	stirbt nach 11—19 Std.	
16		0·5	17 Tage hindurch im Exsiccator und im Dunkeln bei 20° C.	„ „ 10¹/₂ „	
17		0·5	17 Tage hindurch im Brütapparat b. 37° C.	„ „ 10¹/₂ „	
18		0·35	17 Tage hindurch bei 10° C. und im Dunkeln	„ „ 19 „	9 Stunden lang narkoseähnl. Zustand.
			c) Filtrat III von 15 täg. Cultur.		
19		0·25	5 Min. im strömend. Dampf	stirbt nach 11 Stunden	
			B. Auf den zwölften Theil eingeengte Nährbouillon.		
20	12	1·0		stirbt nach 2¹/₂ Std.	
21	13	1·0		„ „ 4¹/₄ „	
22	13	0·7		„ „ 8¹/₃ „	
23	13	0·5		bleibt leben	nur leicht erkrankt.
24	12	0·5		„ „	„ „ „
25	12	0·3		„ „	„ „ „

[1] Die Angaben über das Körpergewicht fehlen hier; es wurden aber mittelgrosse Mäuse von annähernd gleichem Gewicht für diese Versuche gewählt.

beobachtet, und erwies sich der After der Thiere regelmässig stark mit Koth besudelt. Eine Ausnahme machten hiervon nur die Mäuse Nr. 12 und 13, denen das mit Alkohol behandelt gewesene Filtrat eingespritzt worden war. Sonst boten die nach Einspritzung des Culturfiltrates schwer erkrankten Mäuse ausser dem struppigen Aussehen und dem Verklebtsein der Augen eine derartige Schwäche dar, dass sie sich nur unter den grössten Anstrengungen und unter starkem Zittern und Taumeln auf intensive Reize von der Stelle bewegten. Bei den Mäusen Nr. 14 und 18 war diese lähmungsartige Schwäche derart, dass die Thiere 12 bezw. 9 Stunden wie leblos auf dem Bauche bezw. der Seite lagen, und in jeder Lage, die man ihnen gab, liegen blieben. Das Thier Nr. 14 ist die einzige Maus, welche, nachdem der narkoseähnliche Zustand sich völlig ausgebildet hatte, mit dem Leben davon kam.

Da den Thieren das auf den zehnten Theil eingeengte Filtrat eingespritzt worden war, lag der Verdacht nahe, dass die Krankheitserscheinungen und der tödtliche Ausgang bei den Mäusen durch die starke Concentration der Flüssigkeit bedingt oder doch wenigstens begünstigt sein konnte. Es wurden deshalb bei sechs kleinen Mäusen Controlversuche angestellt, indem denselben (Nr. 20 bis 25 der Tabelle I) von einer im Vacuum bei Zimmertemperatur auf den zwölften Theil eingeengten, keimfreien Nährbouillon verschieden grosse Mengen in den Bauch gespritzt wurden. Es ergab sich hierbei, dass bei 1·0 und 0·7 ccm dieser allerdings stärker als unser Filtrat eingeengten und daher concentrirteren Bouillon der Tod der Mäuse schon nach 2 bis 8 Stunden eintrat, dass dagegen die mit 0·5 ccm geimpften nur leicht erkrankten und dass das Krankheitsbild hier ein wesentlich anderes war, indem zunächst Durchfall stets vermisst wurde. Auch fehlten die Lähmungserscheinungen und die starke Herabsetzung der Athmungsfrequenz, welche neben einer Anfangs gesteigerten Reflexerregbarkeit für das Vergiftungsbild bei den Mäusen charakteristisch waren.

Von demselben 30 Minuten lang gekochten Culturfiltrat, welches die Maus Nr. 2 erhalten, wurden übrigens einem 1100 grm schweren Kaninchen 11 ccm in die Bauchhöhle gespritzt. Abgesehen davon, dass eine Zeit lang bei diesem Thiere wieder das Hintertheil gelähmt erschien, kam es zu einem starken Abfall der Körpertemperatur und einer beträchtlichen Verminderung der Athmungsfrequenz, wie das der Vergleich mit einem nicht geimpften Kaninchen ergab. Das Thier erholte sich indess bald wieder.

Es betrug:

	Die Körpertemperatur bei dem		Die Athmungsfrequenz bei dem	
	Impfthier	Controlthier	Impfthier	Controlthier
Kurz vor der Impfung . .	38·9°	—	—	—
2 Stunden später	35·8°	39·4°	60	120
6 „ „	37·8°	38·5°	80	104

Wenn nun auch die Giftigkeit unserer Bouillonculturen, wie bereits gezeigt, schon gegen Ende October erheblich abgenommen hatte, so wurde doch noch der Versuch gemacht, das Gift aus den eingeengten Bouillonculturfiltraten auszufällen, um es zu isoliren oder doch wenigstens in concentrirterer Form zu erlangen. Zu diesem Behufe wurde das eingeengte Filtrat nach der für die Gewinnung der Toxalbumine üblichen Methode tropfenweise in absoluten Alkohol eingetragen und der sich hierbei bildende grauweisse, flockige Niederschlag nach 24stündigem Stehen abfiltrirt. Derselbe löste sich leicht in Wasser und wurde die hergestellte concentrirte wässerige Lösung abermals in absoluten Alkohol eingetragen und der entstandene Niederschlag wieder abfiltrirt. Sowohl mit dem ersten als auch mit dem zweiten Niederschlag wurden die aus der nachstehenden Tabelle II ersichtlichen Versuche an Mäusen ausgeführt. Der Niederschlag bestand offenbar im Wesentlichen aus Pepton, wenigstens waren Albumine bezw. Globuline nicht nachzuweisen, da in den Lösungen weder durch Kochen noch durch Einleitung von CO_2 eine Trübung bezw. Ausfällung herbeigeführt wurde. Concentrirte wässerige Lösungen dieses Niederschlages wirkten bei Einspritzung von 0·5 ccm in die Bauchhöhle derart giftig, dass die Thiere Nr. 1 und 6 bereits nach 2 bis 3 Minuten starben. Mengen von 0·3 bis 0·4 ccm und ein Mal 0·5 ccm riefen bei vier weiteren Mäusen Durchfall, sowie nach anfänglicher hochgradiger Steigerung der Athmungsfrequenz eine starke Verlangsamung derselben hervor, wobei die Athmung mühsam und sehr unregelmässig wurde. Während von vornherein eine allgemeine Erschlaffung bezw. Lähmung der Muskeln zu bemerken war, erschien Anfangs die Reflexerregbarkeit nicht vermindert, ja sogar gesteigert. Nur ein Thier erholte sich wieder, drei starben innerhalb 20 bis 42 Stunden anscheinend in Folge Lähmung der Athemmuskeln. Der Umstand, dass kleinere Mengen der Lösung, z. B. 0·05 ccm bei der Maus Nr. 2, nur geringe und bald vorübergehende Krankheitserscheinungen hervorriefen, legte wieder den Verdacht nahe, dass Krankheit und Tod der Versuchsthiere möglicher Weise durch die verhältnissmässig grosse Menge und die starke Concentration, in welcher das Pepton

Tabelle II.

Nummer der Maus	Körpergewicht der Maus	Menge der in die Bauchhöhle eingespritzten Flüssigkeit	Bezeichnung der in die Bauchhöhle eingespritzten Flüssigkeit	Ausgang	Bemerkungen
	grm	ccm	A. Concentrirte wässerige Lösung des Toxalbumins.		
1	mittelgross	0·5	a) erster Niederschlag	stirbt nach 3 Minuten	
2	15·5	0·05	desgl.	bleibt leben	
3	14·3	0·3	desgl.	bleibt leben	Nach 2 Stunden schwer krank. Augen verklebt, vermag sich nur mühsam zu bewegen, Respiration steigt bis 292 in der Minute. Nach 24 Stunden wieder munter.
4	15·5	0·4	desgl.	stirbt nach 35—42 Std.	Bereits nach $^1/_2$ Stunde narkoseartiger Zustand, der bis zum Tode fortdauert. Die Anfangs auf 280 gesteigerte Respirationsfrequenz ist nach 24 Stunden auf 52 in der Minute gesunken. Anfangs gesteigerte Reflexerregbarkeit und Durchfall.
5	12·0	0·38	desgl.	stirbt nach 20 Stunden	Krankheitserscheinungen ganz ähnlich wie bei Nr. 4.
6	13·0	0·5	b) zweiter Niederschlag I. Portion	stirbt nach 2 Minuten	
7	mittelgross	0·5?	desgl. 20 Min. im strömend. Dampf	bleibt leben	Versuch missglückt, da ein Theil der Flüssigkeit beim Einspritzen vorbeigelaufen. Maus nur wenig krank, nach 20 Std. wieder munter.
8	gross	0·5	c) zweiter Niederschlag II. Portion	stirbt nach 29 Stunden	Sogleich Durchfall, gesteigerte Reflexerregbarkeit u. Athmung, später narkoseähnl. Zustand.
9	17·0	0·5	B. Concentrirte wässerige Lösung von Peptonum siccum Witte	bleibt leben	Erscheint 10 Stunden lang krank, träge und schwach, leidet aber nicht an Durchfall.

zur Einwirkung gelangte, hervorgerufen waren, indess ergab ein mit einer concentrirten wässerigen Lösung von Peptonum siccum Witte ausgeführter Controlversuch, dass 0·5 ccm derselben bei einer mittelgrossen Maus wohl mässige Krankheitserscheinungen, wie Trägheit, Schwäche, Appetitlosigkeit u. s. w., aber nicht den Tod bewirkten, und dass die bisher von uns als für das Gift der Enteritisbakterien charakteristisch erkannten Symptome, wie Durchfall, Lähmungserscheinungen, gesteigerte Reflexerregbarkeit, Störungen der Athmung u. s. w. fehlten. Es erscheint daher die Annahme wohl berechtigt, dass bei den mit den Niederschlägen aus den Culturfiltraten behandelten Mäusen die Krankheitserscheinungen und der Tod in erster Linie auf das durch Behandeln mit Alkohol ausgefällte Gift und erst in zweiter Linie auf das gleichfalls durch Alkohol aus dem Culturfiltrat ausgefällte Pepton zu beziehen waren.

Die zweite Fleischvergiftung, bei welcher von uns Enteritisbacillen als Ursache der Erkrankungen nachgewiesen wurden, ereignete sich im Juni 1895 in dem zum Kreise Tondern gehörigen Ort Haustedt sowie dessen nächster Umgebung.

Ein an „Durchfall mit Schleimabgängen" und Fieber erkrankter Ochse war nach 2tägigem Kranksein geschlachtet worden. Da nur die Leber vergrössert und mit dunklen Flecken durchsetzt war, hatte der beim Schlachten anwesende homöopathische Thierarzt das Fleisch, an welchem übrigens die Consumenten nichts Abnormes wahrgenommen haben, für geniessbar erklärt. Mehr als 50 Personen hatten angeblich von demselben gegessen, 27 davon, grösstentheils Erwachsene, die das Fleisch zumeist in gekochtem Zustande gegessen hatten — nur vereinzelte sollen es roh verzehrt haben —, erkrankten unter Fiebererscheinungen mit Erbrechen, Durchfall, Leib- und Kreuzschmerzen. Bei der Mehrzahl stellten sich die ersten Symptome schon 12 bis 24 Stunden nach der Fleischmahlzeit ein, nur in wenigen Fällen sollen 2 Tage bis zum Ausbruch der Krankheit vergangen sein. In allen Fällen ging die Krankheit nach 3- bis 8tägigem Bestehen in Genesung über. Auf Veranlassung des Hrn. Kreisphysikus Dr. Horn in Tondern wurde ein Stück von dem Ochsenfleisch zur Untersuchung an das hygienische Institut in Kiel eingesandt. Dasselbe, ein etwa 20 cm langes, ebenso breites, bis etwa 5 cm dickes, anscheinend durch Einreiben mit Salz sowie Gewürz haltbar gemachtes, aufgerolltes Stück Bauchfleisch, welches 6 Tage nach der Nothschlachtung eintraf, liess, abgesehen von dem Gewürzgeruch, einen muffigen, dagegen keinen fauligen Geruch erkennen. Es erschien auf der Schnittfläche dunkelroth und zeigte bei mikroskopischer Untersuchung deutliche Querstreifung.

Im gefärbten Ausstrichpräparat fanden sich neben ziemlich grossen und plumpen coliähnlichen Kurzstäbchen auch etwas schlankere, z. Th. gekrümmte Stäbchen. In den Aussaaten auf Gelatine, zu welchen ebenso wie zu den gefärbten Ausstrichpräparaten Partikelchen aus der Tiefe des Fleisches verwendet wurden, gingen neben den an ihrer Körnung leicht erkennbaren Enteritisbakterien, deren Zahl überwog, auch Colonieen von Proteus auf.

Mit dem Haustedter Fleisch gefütterte Mäuse starben erst nach 8 bis 9 Tagen, weitere Mäuse, welche die Cadaver der ersteren angenagt hatten bezw. damit gefüttert worden waren, nach 2 bis 7 Tagen. Erst einige Tage vor dem Tode erschienen die Mäuse krank, die Krankheitserscheinungen entsprachen denjenigen, welche bei den mit dem Rumflether Fleisch gefütterten Mäusen beobachtet waren, ebenso der Obductionsbefund, d. h. Durchfall und Lähmungserscheinungen beherrschten das Krankheitsbild, Enteritis, und zwar hier in jedem Fall mit Blutungen in das Darmrohr, Hämorrhagieen namentlich der Lungen, Vergrösserung der Milz und nekrotische Herde in der Leber bildeten den regelmässigen Obductionsbefund.

Ein mit dem Ochsenfleisch gefüttertes Meerschweinchen starb erst nach 45 Tagen, bei dem stark abgemagerten Thier fand sich wieder die Leber mit stecknadelkopf bis hanfkorngrossen grauweissen Herden durchsetzt. Ein grosses, wie sich später herausstellte, trächtiges Kaninchen starb nach der Einspritzung von 1 ccm einer Aufschwemmung des Fleisches in die Bauchhöhle in 3 Tagen. Enteritisbakterien konnten hier im Blute nicht nachgewiesen werden, während sich dieselben bei den der Fütterung mit dem Ochsenfleisch bezw. Mäusecadavern erlegenen Mäusen aus dem Blute sowie bei dem Meerschweinchen aus der Leber züchten liessen.

Als von dem an einer Schnur im Laboratorium aufgehängten und auf diese Weise allmählich getrockneten Fleisch 1 Jahr später wieder zwei Meerschweinchen gefüttert wurden — das fein zertheilte Fleisch war ebenso wie bei den früheren Fütterungsversuchen in Semmelkrumen eingeknetet den Thieren vorgesetzt worden —, erkrankten beide Thiere unter den Erscheinungen grosser Schwäche, es starb aber nur das eine vor Ablauf von 48 Stunden, ohne dass es gelang, durch mikroskopische Untersuchung und Cultur in dem Blute und der Milz Enteritisbakterien nachzuweisen. Es waren hier offenbar die Bakterien im Fleisch in Folge der Austrocknung inzwischen abgestorben, und die Krankheitserscheinungen bezw. der Tod des einen Meerschweinchens durch die zurückgebliebenen Gifte bewirkt worden. Auch als mit dem mehr als 3 Jahre alten getrockneten Fleisch (im Herbst 1898) 6 Mäuse gefüttert wurden, starben 4 Thiere nach 1, 3, 4

bezw. 16 Tagen, ohne dass sich aus ihrem Blut bezw. den Organen Enteritis- oder andere Bakterien züchten liessen.

Mit dem direct aus dem Fleisch sowie auch mit dem erst aus dem Blut und den Organen der mit Fleisch gefütterten Thiere gezüchteten Enteritisbakterien gelang es, Mäuse, Meerschweinchen sowie eine Taube tödtlich zu inficiren. Die hierzu erforderliche Menge war meist eine sehr geringe, so dass von einer 2tägigen Agarcultur für erwachsene Meerschweinchen wiederholt noch bei intraperitonealer Einverleibung $^1/_{200}$, bei subcutaner $^1/_{100}$ unserer $1 \cdot 65^{mg}$ fassenden Oese genügte, um im ersteren Fall nach 12 bis 53 Stunden, im letzteren manchmal allerdings erst nach 1 bis 5 Wochen den Tod der Meerschweinchen herbeizuführen. In ähnlicher Weise hatten sich von einer Bouilloncultur einmal $0 \cdot 0025^{ccm}$ als ausreichend erwiesen, um ein erwachsenes Meerschweinchen bei intraperitonealer Einverleibung in 7 Tagen zu tödten.

Durch 5 Minuten langes Erhitzen im strömenden Dampf von 100° sowie durch 20 bezw. 10 Minuten langes Erwärmen auf 80° C., wodurch die Enteritisbakterien stets getödtet wurden, verloren die Culturen noch nicht ihre giftige Wirkung auf die Versuchsthiere, denn in einer grösseren Zahl von Versuchen gelang es, kräftige Mäuse innerhalb 24 Stunden durch Einspritzen von $^1/_{10}{}^{ccm}$ gekochter bezw. erhitzter Bouillon-, sowie von $^1/_{20}$ Oese 2tägiger abgetödteter Agarcultur zu tödten. Dabei boten dieselben das gleiche Vergiftungsbild dar, wie die mit abgetödteten Rumflether Culturen geimpften Mäuse, auch wurde hier mehrfach der narkoseähnliche Zustand beobachtet.

Meerschweinchen liessen sich gleichfalls durch verhältnissmässig kleine Mengen abgetödteter Agarculturen tödten. So gingen bspw. drei Meerschweinchen mit einem Körpergewicht von 218, 221 bezw. 235^{grm}, denen $^1/_5$, $^1/_2$ bezw. 2 Oesen einer durch $^5/_4$stündiges Erhitzen auf 55° abgetödteten Agarcultur eingespritzt worden waren, nach 14, 141 bezw. 19 Stunden ein und boten das zweite und dritte Thier etwa 3 Stunden hindurch vor dem Tod einen narkoseähnlichen Zustand dar.

In Betreff des Verhaltens der Haustedter Enteritisbakterien auf den verschiedenen Nährböden kann auf das bei dem Rumflether Enteritisstamm Mitgetheilte verwiesen werden, da es mit diesem bis auf ganz geringfügige Abweichungen völlig übereinstimmte. Als solche wären zu erwähnen eine namentlich im Anfang hervorgetretene stärkere Säurebildung in der Lackmusmolke, sowie eine rasch eintretende Reduction des Lackmusfarbstoffes. Erst in der 2. Woche stellte sich hier die Bläuung der vorher völlig entfärbten Lackmusmolke ein. In Betreff der Indolbildung wäre hervorzuheben, dass der Haustedter Enteritisstamm bei den zahlreichen Prüfungen nur ein einziges Mal, und zwar bei der ersten Prüfung, ein

positives Resultat gab. Ob hier eine Verwechselung untergelaufen, oder ob der Haustedter Enteritisstamm die ursprüngliche Fähigkeit, Indol zu bilden, rasch und dauernd eingebüsst hat, vermag ich nicht zu entscheiden, doch dürfte die erstere Annahme die wahrscheinlichere sein.

Das von den Haustedter Bakterien in Traubenzuckerbouillon gebildete Gas bestand zu:

26 bis 31 Procent aus CO_2,
61 „ 56 „ „ H
13 „ „ N.

Auch bei dem Haustedter Stamm wurde wieder die Beobachtung gemacht, dass die auf den einen Pol beschränkte Färbung gewöhnlich erst an den einige Tage alten Gelatineculturen angetroffen wurde und, dass ausserdem nicht alle Stäbchen diese partielle Färbung darboten. Das Wachsthum in der Gelatine war auch hier wieder ein ausserordentlich charakteristisches. Makroskopisch erinnerten die Culturen einigermaassen an diejenigen der Friedländerbakterien, und bei schwacher Vergrösserung machte sich wieder an den rundlichen, durchscheinenden Oberflächencolonieen die eigenthümliche Körnung bemerkbar, zu welcher weiterhin die radiäre Streifung hinzutrat. An den tieferen Colonieen aber trat die braune Farbe, die grobe Körnung sowie die Streifung der Randpartie noch deutlicher hervor als seiner Zeit bei dem Rumflether Stamm. Leider verliert sich dieses eigenartige Wachsthum in der Gelatine bei längerer Fortzüchtung, wie dies auch schon von Gärtner beobachtet worden ist. So bildete die Cultur, welche uns Hr. Professor Gärtner im Jahre 1892 überliess, statt der runden und deutlich körnigen, von den Coli- und Typhuscolonieen auf den ersten Blick zu unterscheidenden Colonieen, mehr oder weniger zarte, blattförmige, unregelmässig begrenzte, graue, fast farblose und durchscheinende, mit zarter Linienzeichnung versehene Colonieen, die höchstens ganz feinkörnig erschienen, wie sie die Fig. 4 (Taf. VII) wiedergiebt, und wie sie von Typhus bezw. Bacterium coli nicht mit Sicherheit zu unterscheiden sind. Bei dem Rumflether Stamm waren zuerst etwa 3 Monate nach der Isolirung in den Reinculturen auf den Gelatineplatten neben den für Enteritis typischen gekörnten Colonieen solche typhus- bezw. coliähnliche Oberflächencolonieen gesehen worden. Es gelang damals, durch Zurückgreifen auf ältere Culturen noch einige Zeit das typische Wachsthum in den Culturen zu erhalten, aber nach mehreren Umzüchtungen war dasselbe dann für immer verloren. Bei dem Haustedter Stamm blieb das typische Verhalten der Gelatinecolonieen über 1 Jahr lang gut erhalten, dann aber tauchten neben den gekörnten wieder die typhus- bezw. coliähnlichen Colonieen auf, die sehr bald die

Oberhand gewannen, und wurden weiterhin typische Colonieen nur noch ganz ausnahmsweise in den Plattenaussaaten gesehen.

Wie leicht bei dem typischen Wachsthum der Enteritisbakterien deren Erkennung ist, dürfte aus Nachstehendem erhellen. Im October 1896 erhielt das Institut von dem Director des städtischen Schlachthauses in Kiel, Hrn. Ruser, die Milz einer Kuh, welche sich beim Schlachten als mit einer Euterentzündung behaftet erwiesen hatte, so dass das Fleisch des Thieres confiscirt worden war. Als ich nach 2 Tagen in den Gelatineaussaaten die rundlichen, durchscheinenden, gleichmässig gekörnten Oberflächencolonieen neben den braunen, grob gekörnten, tiefgelegenen sah, sprach ich, ohne, dass mir von der Herkunft dieser Culturen das Geringste bekannt geworden war, sofort die Vermuthung aus, dass Enteritisbakterien vorlägen, eine Vermuthung, die nicht nur durch die weiterhin angestellten Cultur- und Uebertragungsversuche, sondern auch mit Hülfe der Serumdiagnose bestätigt wurde.

Von den Uebertragungsversuchen sei hier nur erwähnt, dass eine mit der Kuhmilz gefütterte Maus erst nach 13 Tagen einging. Bei der Obduction wurden Milzvergrösserung und grauweisse Herde in der Leber constatirt, Aussaaten aus dem Blute ergaben wieder die für Enteritis charakteristischen gekörnten Colonieen. Damit geeimpfte Mäuse gingen nach 1 bis 7 Tagen unter denselben Erscheinungen wie die mit den Haustedter Culturen geimpften ein und lieferten auch das gleiche Obductionsergebniss.

III. Immunisirungsversuche mit Enteritisbakterien.

Die bei der Rumflether und Haustedter Fleischvergiftung aufgefundenen Bakterien liessen ebenso wie die aus der Milz der mit Euterentzündung behafteten Kuh isolirten in ihrem morphologischen, culturellen und auch thierpathogenen Verhalten — soweit letzteres untersucht war — eine so grosse Uebereinstimmung mit dem Gärtner'schen Enteritisbacterium erkennen, dass man wohl berechtigt war, dieselben als damit identisch anzusehen. Nachdem aber Pfeiffer (30) gezeigt hatte, dass morphologisch und culturell nicht oder wenigstens nicht sicher von einander zu unterscheidende Bakterien doch noch mit Hülfe des Blutserums immunisirter Thiere als von einander verschieden erkannt werden können, erschien es wünschenswerth, die von uns angenommene Identität unserer Fleischvergiftungsbakterien mit dem Gärtner'schen auch noch durch die Serumreaction zu bestätigen.

Wie oben gezeigt wurde, steht das Enteritisbacterium dem Typhus- bezw. Colibacterium ausserordentlich nahe. Da nun Löffler und Abel (31) in ihrer schönen Arbeit dargethan hatten, dass man Versuchsthiere mit Hülfe von Typhus- bezw. Coliculturen immunisiren kann, und dass alsdann das Blut dieser Thiere eine specifisch baktericide Wirkung gegenüber den Typhus- bezw. Colibakterien entfaltet, so durften wir erwarten, dass sich auch mit Hülfe unserer Enteritisculturen Thiere immunisiren lassen würden, und dass wir alsdann deren Blutserum zur Prüfung nicht nur der von uns, sondern auch der von Gärtner und Anderen aufgefundenen Enteritisstämme würden verwenden können. In dieser Erwartung sahen wir uns aber getäuscht. Es gelang uns nicht, unsere Versuchsthiere zu immunisiren. Das Blut derselben erlangte in Folge der Vorbehandlung mit den Culturen wohl specifische agglutinirende, aber keine bakteriolytischen Eigenschaften, so dass für die Identificirung nicht, wie ursprünglich beabsichtigt, die Pfeiffer'sche, sondern nur die Gruber'sche Serumreaction Verwendung finden konnte.

Zu den ersten Immunisirungsversuchen wurden Meerschweinchen verwendet, von denen ein Theil mit dem Haustedter, der andere mit dem Rumflether Stamm behandelt wurde. Die Ergebnisse zweier derartiger Versuche finden sich in der Tabelle III (nächste Seite). Begonnen wurde mit der Einspritzung von durch Chloroform abgetödteten Culturen, die in steigenden Mengen gewöhnlich erst unter die Haut und dann in die Bauchhöhle gespritzt wurden. Statt der Impfung mit abgetödteten Culturen wurden einige Meerschweinchen längere Zeit hindurch mit solchen gefüttert. Es folgte dann die Einspritznng lebender Culturen bei einigen Thieren erst unter die Haut und später in die Bauchhöhle, bei anderen sogleich in die Bauchhöhle. Zu einer neuen Einspritzung wurde immer erst geschritten, wenn die Reactionserscheinungen vorübergegangen waren und das Thier sein früheres Körpergewicht wiedererlangt hatte. Ueber $^1/_{10}$ Oese wurde bei der Einspritzung in die Bauchhöhle nicht hinausgegangen, da die Thiere hierauf gewöhnlich mit starker Gewichtsabnahme reagirten.

Trotz dieses vorsichtigen Vorgehens büssten wir indess eine ganze Anzahl unserer Versuchsthiere ein. So verloren wir zwei Meerschweinchen schon nach der dritten Einspritzung von durch Chloroform abgetödteten Culturen. Das eine Thier hatte $^3/_4$ Oese Haustedter Cultur subcutan, das andere 1 Oese Rumflether intraperitoneal eingespritzt erhalten. Unter fortdauernder Gewichtsabnahme ging das erstere nach 9, das letztere nach 31 Tagen ein. Bei dem ersteren fanden sich in der Leber, bei dem letzteren auch in der Milz und den Lungen kleine nekrotische Herde. Die zu den Einspritzungen verwandten Agarculturen hatten sich, nachdem sie 2 Stunden

Tabelle III.

Datum	Körpergew. in grm	Gewichtsabnahme in grm n. d. letzten Einspritzung	Menge (Oese)	Bezeichnung der eingespritzten Cultur	Ort der Einspritzung	Verlauf
				a) Haustedter Enteritisbakterien.		
1897						
25. I.	344		0·25	durch Chloroform abgetödtet	Bauchhöhle	Gewichtsabnahme.
1. II.		24				
15. II.	345		0·5	desgl.	„	desgl.
		20				
10. III.	375		0·1	lebend	Unterhaut	Fieber (bis 39·6°), Infiltrat.
29. III.	392		0·1	desgl.	„	desgl. Gewichtsabnahme.
		34				
10. IV.	392		0·2	desgl.	„	geringe Reaction.
8. VI.	472		0·01	desgl.	Bauchhöhle	starke Gewichtsabnahme.
		124				
26. VIII.	403					erholt sich nur langsam.
10. IX.						nach Fütterung mit frisch gemähtem Gras eingegangen.
				b) Rumflether Enteritisbakterien.		
1897						
16. I.	310		1·0	durch Chloroform abgetödtet	Unterhaut	Infiltration an d. Impfstelle
25. I.	305		0·25	desgl.	Bauchhöhle	geringe Gewichtsabnahme.
18. II.	335		0·5	desgl.	„	
1. III.	335		0·1	lebend	„	geringe Reaction.
		20				
15. III.	375		0·1	desgl.	„	Fieber, Gewichtsabnahme.
		49				
31. III.						Blutentnahme a. d. Carotis.
23. IV.	425		0·1	desgl.	„	Gewichtsabnahme.
		27				
26. VIII.	502					trächtig.
5. IX. 1898	632		0·01	Haustedter Bakterien lebend	Unterhaut	Gewichtsabnahme. Abscess. Bleibt leben.

lang Chloroformdämpfen ausgesetzt gewesen waren, bei Aussaaten regelmässig als abgetödtet erwiesen. Sechs weitere Thiere, bei welchen nach 3- bezw. 2maliger Impfung bezw. nach voraufgegangener Fütterung mit abgetödteten Culturen je $^1/_{100}$ Oese lebender Haustedter bezw. Rumflether Cultur eingespritzt wurde, gingen 8, 8, 15, 22, 22 bezw. 49 Tage darauf ein. Von den vier übrigen Thieren, welche die Einspritzung lebender Cultur in die Bauchhöhle überstanden, konnten drei, weil sie inzwischen trächtig geworden waren, längere Zeit nicht für die Immunisirungsversuche verwendet werden, da sich uns trächtige Thiere als ganz besonders empfänglich für die Infection mit Enteritisbakterien erwiesen hatten. Später aber hatten wir noch das Missgeschick, dass von diesen vorbehandelten Thieren drei in Folge der Fütterung mit frischem Gras an acutem Magenkatarrh eingingen, so dass also schliesslich nur ein einziges Thier (Nr. 2 der Tabelle III) am Leben blieb.

Da Controlthiere in der Regel schon bei Einspritzung von $^1/_{200}$ Oese lebender Cultur in die Bauchhöhle einer tödtlichen Infection erlagen, so entsprach $^1/_{10}$ Oese mindestens der 20fachen tödtlichen Minimaldosis. Wenn wir nun sehen, dass drei Meerschweinchen 2 bezw. 3 Mal die intraperitoneale Einspritzung von $^1/_{10}$ Oese lebender Cultur überstanden haben, so könnte man anzunehmen geneigt sein, dass durch die Vorbehandlung mit den Enteritisculturen in der That eine echte Immunisirung der Meerschweinchen gelungen sei. Einer solchen Annahme steht indess entgegen, dass die Zeit, welche bei Einspritzung von $^1/_{10}$ Oese lebender Cultur in die Bauchhöhle seit der zuletzt voraufgegangenen Einspritzung verflossen war, 6 Mal nur 10 bis 20 und 1 Mal 39 Tage betrug. Da bekannt ist, dass Einspritzungen in die Bauchhöhle, auch wenn dazu nicht nur andere Culturen, sondern auch allerlei sonstige Stoffe verwendet werden, bei den Meerschweinchen eine 1 bis 2 Monate lang andauernde gesteigerte Widerstandsfähigkeit gegen die Infectionen mit den verschiedensten Erregern bewirken, so erscheint es viel wahrscheinlicher, dass bei unseren Versuchsthieren die in Folge der erst vor Kurzem stattgehabten Einspritzung gesteigerte Widerstandsfähigkeit das Bestehen einer echten Immunität nur vorgetäuscht hat. In der That wird man in dieser Auffassung bestärkt, wenn man sich vergegenwärtigt, dass das 2 Mal mit abgetödteten und 3 Mal mit lebenden Haustedter Culturen vorbehandelte Meerschweinchen Nr. 1 der Tabelle III, als ihm nach einer Pause von 59 Tagen nunmehr nur $^1/_{100}$ Oese lebende Cultur in die Bauchhöhle eingespritzt wurde, mit einer hochgradigen, lang andauernden Gewichtsabnahme reagirte, während es zuletzt auf die allerdings subcutane Einspritzung von $^1/_5$ Oese, mithin der 20fachen Culturenmenge, nur wenig reagirt hatte.

Dafür, dass bei Meerschweinchen durch die Vorbehandlung mit Enteritisculturen eine echte, wenn auch nur geringfügige Immunität zu erreichen sei, liesse sich höchstens die Thatsache verwerthen, dass das Meerschweinchen Nr. 2 der Tabelle III, im September 1898, d. h. mehr als 16 Monate nach beendigter Vorbehandlung die subcutane Einverleibung von $^1/_{100}$ Oese lebender Haustedter Cultur vertrug, die bei einem gleichzeitig mit derselben Menge subcutan geimpften, gleich grossen, aber nicht vorbehandelten Meerschweinchen den Tod am 7. Tage nach der Impfung zur Folge hatte. Hier war aber die zur Impfung verwandte Culturmenge eine so kleine, dass bei Impfung einer grösseren Anzahl von Controlthieren möglicher Weise auch das eine oder andere unvorbehandelte Thier den Eingriff überstanden haben würde. Auch hätte, falls eine wirkliche Immunität vorgelegen hätte, die Impfung ohne stärkere Reaction überstanden werden müssen, während unser Versuchsthier nicht nur mit Gewichtsabnahme, sondern auch mit einer abscedirenden Infiltration an der Impfstelle reagirte.

Demselben Versuchsthier war am 31. März 1897, d. h. 16 Tage, nachdem ihm zum zweiten Male $^1/_{10}$ Oese lebender Cultur in die Bauchhöhle gespritzt war, Blut aus der Carotis entnommen worden. Das daraus gewonnene Serum zeigte wohl eine ausgesprochene agglutinirende Wirkung gegenüber den Enteritisstämmen der Rumflether, Hanstedter und Frankenhäuser Fleischvergiftung, indem es den betreffenden Bakterienaufschwemmungen im Verhältniss von 1:100 zugesetzt, innerhalb 1 Stunde alle drei Stämme makroskopisch agglutinirte, dagegen vermochte es, wie der Versuch I der Tabelle IV auf S. 499 erkennen lässt, in einer Menge von 0·1 ccm nicht, bei den mit $^1/_{100}$ bezw. $^1/_{10}$ Oese der Rumflether Bakterien geimpften Meerschweinchen den tödtlichen Ausgang zu verhüten; das eine mit dem Meerschweinchenserum behandelte Thier (Nr. 2 der Tabelle IV) starb zwar erst 4 Tage später, als ein Controlthier, welches gleichfalls mit $^1/_{100}$ Oese Rumflether Bakterien geimpft war, ausserdem aber 0·1 ccm Choleraziegenserum eingespritzt erhalten hatte, aber an Proben der Bauchhöhlenflüssigkeit, die mittelst Capillaren 5, 10, 20 bezw. 40 Minuten nach der Einspritzung entnommen wurden, war nichts zu beobachten, was auf einen bakteriolytischen Vorgang bezw. auf eine Abtödtung der eingespritzten Enteritisbakterien hingewiesen hätte. Auch liessen sich aus dem Herzblut der eingegangenen drei Thiere die Enteritisbakterien züchten. Sogleich nach der Einspritzung erschienen die Bakterien in der Bauchhöhlenflüssigkeit zum Theil agglutinirt, es fanden sich aber daneben noch viele lebhaft bewegliche, die sich gut färbten. Später machte sich eine starke Leukocytose bemerkbar, und zeigten sich viele Bakterien innerhalb der Zellen.

Erwähnt mag noch werden, dass auch eine forcirte Immunisirung bei Meerschweinchen versucht wurde, wobei den Thieren nach der anfänglichen Einspritzung von abgetödteten Haustedter Bakterien in Zwischenräumen von 6 bis 24 Stunden steigende Mengen lebender Cultur in die Bauchhöhle eingespritzt wurden. So war bei einem Meerschweinchen schon 44 Stunden nach Beginn des Versuches $^2/_5$ Oese lebender Cultur eingespritzt, es starb 25 Stunden nach dieser letzten Einspritzung, während ein allerdings nur halb so schweres Controlthier, welches bisher noch nicht im Versuch war, schon $8^1/_4$ Stunden nach der Einspritzung von $^1/_5$ Oese lebender Haustedter Cultur einging.

Bei einem zweiten Meerschweinchen wurde der Versuch sogleich mit der Einspritzung von $^1/_{10}$ Oese lebender Haustedter Cultur begonnen, nach 7 Stunden erhielt das Thier $^1/_5$, nach 23 Stunden $^1/_2$ und 47 Stunden nach Beginn des Versuches nochmals $^1/_2$ Oese lebender Cultur in die Bauchhöhle. Der Tod erfolgte hier erst 5 Tage nach der letzten Einspritzung, während ein bis dahin nicht gespritztes Controlthier nach intraperitonealer Einverleibung von nur $^1/_{10}$ Oese lebender Cultur bereits vor Ablauf von 20 Stunden einging. Es hatte mithin die nach kurzer Zeit wiederholte intraperitoneale Einspritzung lebender Culturen den Tod der Thiere jedes Mal und zwar in einem Versuch um mehrere Tage, verzögert.

An mittels Capillaren aus der Bauchhöhle in der Zeit zwischen den einzelnen Einspritzungen entnommenen Proben wurde wieder eine starke Leukocytose beobachtet, hier sah man in der Regel gar keine Bakterien frei in der Flüssigkeit, sondern sie lagen sämmtlich innerhalb der Leukocyten.

Bei dem erst 5 Tage nach der letzten Einspritzung von $^1/_2$ Oese eingegangenen Thiere ergab die Section ausser einer starken Infiltration an den Einstichstellen eine Entzündung des einen Hodens sowie eine serofibrinöse Peritonitis. Mit der etwa 5 ^{ccm} betragenden klaren gelblichen Flüssigkeit, die sich in der Bauchhöhle fand, wurden sowohl Agglutinations- als auch Immunisirungsversuche angestellt. Sowohl der Haustedter als auch der ans der Kuhmilz isolirte Enteritisstamm wurden makroskopisch innerhalb $^1/_4$ Stunde agglutinirt, wenn den Bakterienaufschwemmungen die Ascitesflüssigkeit im Verhältniss von 1:25 zugesetzt worden war.

Aus den Immunisirungsversuchen Nr. II und III der Tabelle IV geht aber auch hervor, dass der Zusatz von 0·1 ^{ccm} bezw. von 0·025 und 0·05 ^{ccm} dieser Ascitesflüssigkeit zu lebenden Culturen der Rumflether Bakterien bei den damit geimpften Thieren den Tod verzögerte. Der Tod erfolgte einmal 7 und einmal 5 bezw. 6 Tage später als bei Controlthieren, die mit gleichen Mengen der Enteritisbakterien unter Zusatz von normalem Menschenblutserum geimpft waren.

$1^1/_2$ Stunden nach der Einspritzung wurden bei den Thieren, welche die mit Ascitesflüssigkeit versetzte Cultur bekommen hatten, in der aus dem Bauch entnommenen Flüssigkeit nur Bakterien gesehen, die sich im hängenden Tropfen nicht bewegten, sie färbten sich aber gut und liessen keinerlei Anzeichen von Bakteriolyse erkennen. Aus dem Herzblut aller bei diesen Versuchen erlegenen Thiere wurden die Enteritisbakterien wieder gezüchtet.

Eine passive Immunisirung der Meerschweinchen war demnach nicht geglückt, dagegen hatte das Blutserum eines langsam und in vorsichtiger Weise mit steigenden Dosen Enteritisculturen behandelten Thieres, sowie auch die Bauchhöhlenflüssigkeit des der forcirten Behandlung unterworfenen Thieres den Tod der mit den Culturen geimpften Meerschweinchen in höherem Maasse zu verzögern vermocht, als das Blutserum gesunder Menschen bezw. nicht vorbehandelter, bezw. mit anderen Culturen vorbehandelter Thiere. Einer activen Immunisirung mit Enteritisculturen wurden noch ein Kaninchen und zwei Ziegen unterworfen.

Das 2600 ^{grm} schwere Kaninchen erhielt am 27. XII. 1897, 19. I., 8. II. sowie 2. IV. 1898 2, 5, 5 bezw. 6 durch halbstündiges Erwärmen auf 55° C. abgetödtete Agarröhrchenculturen des Haustedter Enteritisstammes in die Bauchhöhle gespritzt. Es kam zu Infiltrationen an den Impfstellen, die zu ausgedehnten Eiterungen im Unterhautzellgewebe führten, und magerte das Thier stark ab. Das am 30. IV., mithin 4 Wochen nach der letzten Einspritzung aus der Ohrvene entnommene Blut agglutinirte die Haustedter Bakterien noch bei 1 : 180 innerhalb von 2 Stunden makroskopisch, es vermochte aber in der Menge von 0·1 ^{ccm} Meerschweinchen, die mit $^1/_5$ bezw. 1 Oese lebender Haustedter Bakterien intraperitoneal geimpft wurden, nicht vor dem Tode zu schützen. Wie aus dem Versuch IV der Tabelle IV zu ersehen ist, wurde aber auch durch das Kaninchenblutserum der Tod der mit Enteritisculturen geimpften Meerschweinchen nicht mehr verzögert als durch das Serum einer mit Choleraculturen vorbehandelten Ziege.

Nachdem das Kaninchen am 7. V. 1898 noch 3 Agarculturen lebender Bakterien unter die Haut gespritzt erhalten hatte, traten neue Abscesse auf, und ging das Thier, trotzdem durch vielfache Incisionen dem Eiter freier Abfluss verschafft wurde, am 4. VIII. 1898 ein. Das aus dem Herzblut gewonnene Blutserum wurde abermals zu einem Versuch benutzt, um zu erfahren, ob es inzwischen vielleicht eine baktericide Wirkung gegenüber den Haustedter Enteritisbakterien erlangt hatte. Es vermochten indess auch diesmal 0·1 ^{ccm} von demselben ein Meerschweinchen nicht vor $^1/_{10}$ Oese, d. h. der etwa 20fachen tödtlichen Minimaldosis der Haustedter Bakterien zu schützen, das Thier Nr. 39 starb vielmehr, wie aus Versuch X

der Tabelle IV ersichtlich ist, noch etwas früher als die mit Typhus-, Coli- bezw. Choleraserum in gleicher Weise behandelten Controlthiere Nr. 41, 42 und 43.

Die beiden Ziegen, von denen die eine nur mit dem Rumflether, die andere ausschliesslich mit dem Haustedter Enteritisstamm behandelt wurde, reagirten Anfangs schon auf kleine Dosen der lebenden Culturen sehr heftig, so dass mit grosser Vorsicht vorgegangen werden musste. Die Thiere erhielten zunächst innerhalb 4 Wochen, und zwar in 4- bis 10tägigen Intervallen $^1/_2$, 1, 4 bezw. 8 Oesen von den durch 10 Minuten langes Erhitzen auf 80° C. abgetödteten Culturen unter die Haut gespritzt. Nur die letzte Einspritzung war von einer weiterhin abscedirenden Infiltration an der Impfstelle, bei der Haustedter Ziege auch von einer Abnahme des Körpergewichtes gefolgt. Einen Abscess an der Impfstelle sowie eine mässige Gewichtsabnahme zog aber auch bei beiden Ziegen die subcutane Einspritzung von $^1/_{100}$ Oese lebender Cultur nach sich. Als darauf von lebenden Culturen $^1/_{10}$, $^1/_5$, $^2/_5$ sowie nach einer 2monatlichen Pause nochmals $^1/_{100}$, $^1/_5$ und $^1/_2$ Oese unter die Haut, und weiterhin $^1/_{100}$, $^1/_{10}$, $^1/_2$, 1, 2, 4, 6 bezw. 8 Oesen in die Bauchhöhle gespritzt wurden, bekamen die Thiere fast nach jeder einzelnen Einspritzung hohes Fieber, so dass die sonst zwischen 38 und 40° C. schwankende Rectumtemperatur am Abend nach der Einspritzung auf 40·6 bis 41·3° anstieg, und erschienen die Thiere gewöhnlich 1 bis 2 Tage schwerkrank, indem sie das Futter verweigerten und traurig in der Ecke standen. An den Einstichstellen kam es bei subcutaner Impfung regelmässig zu schmerzhaften, umschriebenen, später abscedirenden Infiltrationen, und nahm das Körpergewicht innerhalb von 3 bis 7 Tagen um $^1/_{20}$ bis $^1/_{10}$ ab. Gewöhnlich vergingen 3 Wochen, ehe das ursprüngliche Gewicht wieder erreicht war, und da zu einer neuen Einspritzung grundsätzlich immer erst dann geschritten wurde, wenn die Thiere ihr altes Gewicht wieder erlangt hatten, zog sich die Behandlung ziemlich in die Länge, so dass erst 9 Monate nach Beginn derselben 8 Oesen lebende Cultur in die Bauchhöhle gespritzt werden konnten. Als den Thieren jetzt der Reihe nach 1, 2, 3, 4 bezw. 6 ganze Agarröhrchenculturen unter die Haut gespritzt wurden, war die Reaction nur bei der letzten Einspritzung eine stärkere, so dass sich die Einspritzungen meist in etwas kürzeren Intervallen folgen konnten, auch bildeten sich nunmehr nicht selten die Infiltrationen der Stichstellen wieder zurück, ohne dass es zu einer Abscedirung kam. Nachdem auf diese Weise die Behandlung etwa 1 Jahr lang gedauert hatte, bekamen die Thiere während der nächsten 7 Monate ungefähr alle 4 Wochen 4 bis 5 Agarröhrchenculturen unter die Haut gespritzt, wobei sie in der Regel wieder mit Temperaturen bis 41·3 (ein Mal sogar 41·6°), mit schweren allgemeinen Krankheits-

erscheinungen sowie beträchtlicher Gewichtsabnahme reagirten, während sich die Infiltrationen zumeist wieder zurückbildeten. Bei der Rumflether Ziege wurde nunmehr die Behandlung nach im Ganzen 19monatlicher Dauer abgebrochen, und das Thier weiterhin zu Immunisirungsversuchen mit Bacterium coli commune verwendet. Die Haustedter Ziege dagegen bekam noch 2 Mal und zwar nach Pausen von 3 bezw. 2 Monaten je 5 Agarculturen, nach einer abermaligen Pause von 2 Monaten 3 Agarculturen und schliesslich nach einer 5monatlichen Pause 1 Agarcultur unter die Haut gespritzt. Sie reagirte jedes Mal mit starkem Fieber (bis 41·2°), schwerem allgemeinen Kranksein und beträchtlicher Gewichtsabnahme. Nach der letzten Einspritzung trat noch Durchfall hinzu, der etwa 1 Tag anhielt, und ging das Thier nach 6tägiger Krankheit ein. Die Obduction ergab ausser reichlichen Verwachsungen der Baucheingeweide eine eitrige Infiltration im rechten oberen Lungenlappen. Enteritisbakterien liessen sich aus dem Blut und den Organen nicht züchten.

Es war mithin auch bei den Ziegen nicht gelungen, dieselben durch systematische Behandlung mit Enteritisculturen gegen diese Bakterien zu immunisiren. Dieselben reagirten wohl schliesslich auf 4 bis 6 ganze Agarculturen kaum stärker als im Anfang auf die subcutane Einspritzung von $^1/_{10}$ Oese, indess lag hier ebenso wenig wie bei den vorbehandelten Kaninchen und Meerschweinchen eine echte, d. h. specifische Immunität vor. Es handelte sich vielmehr offenbar wiederum nur um eine gesteigerte Widerstandsfähigkeit, wie sie wahrscheinlich in gleicher Intensität auch durch die Einspritzung anderer Culturen bezw. anderer Substanzen hätte erreicht werden können. Nur, wenn sich die Einspritzungen in kurzen Intervallen folgten, fielen die Reactionen schwächer aus. Als die Dosis nicht mehr gesteigert wurde, und die Einspritzungen eine Zeit lang regelmässig ungefähr alle 4 Wochen erfolgten, war die Reaction jedes Mal eine starke, von einem Nachlass der Erscheinungen bei den späteren Injectionen jedenfalls nichts wahrzunehmen. Und als hierauf bei der Haustedter Ziege die Intervalle auf 2 bis 3 Monate ausgedehnt wurden, fielen die Reactionen sogar bei Reduction der eingespritzten Culturmenge von 5 auf 3 Agarröhrchenculturen eher intensiver als schwächer aus, und erfolgte schliesslich bei dem im Ganzen 26 Monate hindurch mit Enteritisculturen behandelten Thier, nachdem mit den Einspritzungen 5 Monate hindurch pausirt war, auf die Einspritzung von nur einer einzigen Agarcultur der tödtliche Ausgang. Dementsprechend liessen sich nun auch im Blut der beiden Ziegen zu keiner Zeit immunisirende Stoffe nachweisen. Das Blut wurde den Thieren in einer Menge von etwa 50 ccm aus der Jugularvene entnommen.

Blutentnahmen fanden statt:

1. 7 Monate nach Beginn der Vorbehandlung und nach erstmaliger Einspritzung von $^1/_2$ Oese lebender Cultur unter die Haut,
2. 9 Monate nach Beginn der Vorbehandlung und nach erstmaliger Einspritzung von 6 Oesen in die Bauchhöhle,
3. $10^1/_2$ Monate nach Beginn der Vorbehandlung und nach erstmaliger Einspritzung von 4 Agarculturen unter die Haut,

3a. 13 Monate nach Beginn der Vorbehandlung und nach dreimaliger Einspritzung von 4 Agarculturen unter die Haut,

4. 17 Monate nach Beginn der Vorbehandlung und nachdem die Thiere 5 Monate hindurch alle 4 Wochen 4 bis 5 Agarculturen unter die Haut gespritzt erhalten hatten,
5. 19 Monate nach Beginn der Vorbehandlung und nachdem die Thiere 7 Monate hindurch alle 4 Wochen 4 bis 5 Agarculturen unter die Haut gespritzt erhalten hatten,
6. 20 Monate nach Beginn der Vorbehandlung und nachdem die Thiere 7 Monate hindurch alle 4 Wochen 4 bis 5 Agarculturen unter die Haut gespritzt erhalten hatten.

Die Versuche V bis XI der Tabelle IV, welche nur eine kleine Auswahl der zahlreichen mit gleichem Ergebniss an Meerschweinchen ausgeführten Versuche bilden, lassen erkennen, dass das Ziegenserum zu keiner Zeit eine baktericide bezw. bakteriolytische Wirkung gegenüber den Enteritisbakterien entfaltete. Obwohl die zur Infection der Meerschweinchen verwandte Culturmenge mehrfach nur $^1/_{25}$ Oese, entsprechend etwa der achtfachen tödtlichen Minimaldosis, betrug, und obwohl die der Culturaufschwemmung zugesetzte Serumdosis von 0·01 bis 0·1 ^{ccm} variirte, gelang es auch nicht in einem einzigen Falle, bei den Thieren den tödtlichen Ausgang abzuwenden. Ja, nicht einmal eine Hinausschiebung des Todes, der auf eine specifische Wirkung zu beziehen gewesen wäre, kam zu Stande. Wohl starben die Thiere viel später, als wenn ihnen die gleiche Culturmenge ohne Serum eingespritzt worden war, dagegen erfolgte der Tod nicht später als bei denjenigen Controlthieren, welche die gleiche Culturmenge mit einem anderen Serum, wie z. B. Typhus-, Coli- bezw. Choleraserum, vermischt eingespritzt bekamen. Bei allen Versuchsthieren, sowohl den mit Enteritisserum als auch den mit anderem Serum behandelten, gelang es nach dem Tode in jedem einzelnen Falle die Enteritisbakterien aus dem Herzblut durch die Cultur wieder zu erlangen. Dass das Enteritisserum weder eine Bakteriolyse noch überhaupt eine Abtödtung der eingespritzten Enteritisbakterien bewirkte, lehrte die Untersuchung der Bauchhöhlenflüssigkeit. Obwohl dieselbe bei vielen Versuchsthieren 5, 10, 20, 40 bezw.

Tabelle IV.

Nr. und Datum des Versuches	Nr. des Meerschw.	Gewicht (grm) des Meerschweinchens bei der Impfung	Gewicht (grm) des Meerschweinchens nach dem Tod	Menge (Oese) d. eingespritzten Enteritiscultur	Bezeichnung d. eingespritzten Enteritiscultur	Menge (ccm) des der Culturaufschwemmung zugesetzten Serums	Bezeichnung des der Culturaufschwemmung zugesetzten Serums	Der Tod erfolgte Stunden nach der Impfung	Bemerkungen
I. 1. IV. 1897	1	552	465	1/10	Rumflether	0·1	Rumflether Meerschw.	142	Blut nach 2maliger intraperitonealer Einspritzung von 0·1 aus der Carotis. (Tabelle IIIb.)
	2	480	373	1/100	„	0·1	desgl.	<216	
	3	464	375	1/100	„	0·1	Cholera-Ziegenserum	123	
II. 29. I. 1897	4	442	342	1/1	Haustedter	0·1	Haustedter Meerschw. Forcirte Immunisirung. Ascitesflüssigkeit.	<144	Vgl. S. 494.
	5	275	222	1/2	„	0·1		<192	
	6	405	360	1/2	„	0·1	Serum vom gesunden Menschen	28	
	7	280	225	1/10	„	0·1		<288	
	8	260	212	1/100	„	—	—	<144	
III. 1. II. 1897	9	420	350	1/2	„	0·025	Haustedter Meerschw. Forcirte Immunisirung. Ascitesflüssigkeit	161	
	10	460	390	1/2	„	0·05		94	
	11	552	—	1/2	„	0·1	Serum vom gesunden Menschen	< 17	
IV. 3. V. 1898	12	332	—	1/1	„	0·1	Haustedter Kaninchen Serum Nr. 1 v. 30. IV. 98.	<130	Vgl. S. 495. Blutentnahme nach 7monatlicher Vorbehandlung.
	13	274	210	1/1	„	0·1	desgl.	124	
	14	260	212	1/5	„	0·1	desgl.	<164	
	15	262	212	1/1	„	0·1	Cholera-Ziegenserum	<168	
	16	260		1/25	„	—		21	
	17	248		1/33	„	—		19	
V. 28. VII. 97.	18	200		1/1	„	0·05	Haustedter Ziegenserum 1	< 42	Vgl. vorige S.
	19	198		1/100	„	—	—	< 18	Blutentnahme nach 7monatlicher Vorbehandlung.

Tabelle IV. (Fortsetzung.)

Nr. und Datum des Versuches	Nr. des Meerschw.	Gewicht (grm) des Meerschweinchens bei der Impfung	Gewicht (grm) des Meerschweinchens nach dem Tod	Menge (Oese) d. eingespritzten Enteritiscultur	Bezeichnung d. eingespritzten Enteritiscultur	Menge (ccm) des der Culturaufschwemmung zugesetzten Serums	Bezeichnung des der Culturaufschwemmung zugesetzten Serums	Der Tod erfolgte Stunden nach der Impfung	Bemerkungen
VI. 10. IX. 97.	20	306	262	1/1	Rumflether	0·02	Rumflether Ziegenserum 2	< 264	Vgl. S. 498.
	21	296		1/1	„	0·02		< 120	Blutentnahme nach 9 monatlicher Vorbehandlung.
	22	310		1/1	„	0·1		< 19	
VII. 2. II. 98.	23	415	348	4/5	Haustedter	0·01	Haustedter Ziegenserum 3a	< 89	Blutentnahme nach 13 monatlicher Vorbehandlung.
	24	395	310	2/5	„	0·01	desgl.	< 113	
	25	422	390	4/5	„	0·01	Rumflether Ziegenserum 3	< 89	Blutentnahme nach 10½ monatlicher Vorbehandlung.
	26	410	342	2/5	„	0·01	desgl.	< 113	
	27	420	354	4/5	„	0·05	Cholera-Ziegenserum	92	
	28	405	321	2/5	„	0·05	desgl.	94	
	29	362		2/25	„	—	—	< 16½	
	30	310		1/25	„	—	—	< 16½	
VIII. 16. VIII. 98.	31	262	251	1/25	„	0·05	Haustedter Ziegenserum 5	< 42	Blutentnahme nach 19 monatlicher Vorbehandlung. Agglutinirt! Enteritisbakterien bei 1:50000.
	32	264	222	1/25	„	0·05	Cholera-Ziegenserum	< 138	
	33	268	264	1/25	„	—	—	25	
IX. 21. VII. 98.	34	328	233	1/25	„	0·1	Haustedter Ziegenserum 5	116	
	35	355	256	1/25	„	0·1	Typhus-Ziegenserum	141	
	36	392	—	1/25	„	—	—	20	
X. 10. VIII. 98.	37	292	179	1/10	„	0·1	Haustedter Ziegenserum 5	72	
	38	288	203	1/10	„	0·1	„ „ 6	54	Vgl. S. 498. Blutentnahme n. 20 monatl. Vorbehandlg.
	39	285	195	1/10	„	0·1	„ Kaninchenserum 2	67	Aus dem Herzblut des eingegangenen Thieres.
	40	296	181	1/10	„	0·1	Rumflether Ziegenserum 5	72	Blutentnahme nach 19 monatlicher Vorbehandlung. Vgl. S. 498.

	41	302	192	$^1/_{10}$	Haustedter	0·1	Typhus-Ziegenserum	<114	
	42	320	215	$^1/_{10}$	„	0·1	Coli-Kaninchenserum	124	
	43	322	225	$^1/_{10}$	„	0·1	Cholera-Ziegenserum	146	
	44	325	—	$^1/_{10}$	„	—	—	22	
XI. 16.VIII. 98.	45	278	198	$^1/_{10}$	„	0·15	Gemisch aus gleichen Thln. Ziegenserum: Rumfleth, Haustedt, Typhus, Cholera u. Coli	154	
	46	330	203	$^1/_{10}$	„	0·15	desgl.	<162	
	47	242	173	$^1/_{10}$	„	0·15	Haustedt- u. Normalserum	<139	
	48	328	218	$^1/_{10}$	„	0·15	desgl.	153	
	49	250	174	$^1/_{10}$	„	0·15	Rumfleth- u. Normalserum	<139	
	50	266	206	$^1/_{10}$	„	0·15	Rumfleth- u. Typhusserum	174	
	51	268	209	$^1/_{10}$	„	0·15	Rumfleth- u. Coliserum	<138	
	52	274	202	$^1/_{10}$	„	0·15	Rumfleth- u. Choleraserum	<162	
	53	232	170	$^1/_{10}$	„	0·15	Typhus- u. Normalserum	145	
	54	230	182	$^1/_{10}$	„	0·15	Coli- u. Normalserum	126	
	55	228	—	$^1/_{10}$	„	0·15	Cholera- u. Normalserum	<195 >187	
	56	342	327	$^1/_{10}$	„	—	—	$23^1/_2$	
XII. 20. I. 98.	57	240		$^6/_1$	Haustedter abgetödtet	0·05	Haustedter Ziegenserum 3a	6	Blutentnahme nach 18 monatlicher Vorbehandlung.
	58	232		$^3/_1$	„	0·05	desgl.	8	
	59	230		$^1/_1$	„	0·05	desgl.	20	
	60	228		$^3/_1$	„	—	—	25	
	61	229		$^1/_1$	„	—	—	$21^1/_2$	
	62	226		$^1/_3$	„	—	—	<114	

60 Minuten nach der Einspritzung mittels Glascapillaren entnommen wurde, waren durch die mikroskopische Untersuchung nie Vorgänge zu beobachten, die als bakteriolytische bezw. baktericide gedeutet werden konnten. Sofern die eingespritzten Bakterien nicht agglutinirt erschienen, zeigten sie sich beweglich, und war auch in Färbepräparaten ihre Form gut erhalten.

Nachdem bei den Versuchen VIII, IX und X die mit Cholera-, Typhus- bezw. Coliserum behandelten Meerschweinchen sogar etwas später eingegangen waren als die mit Enteritisserum behandelten, wurde in einem weiteren Versuche (Nr. XI) noch geprüft, ob vielleicht Mischungen dieser Sera mit Enteritisserum im Stande wären, bei mit Enteritisculturen geimpften Meerschweinchen den tödtlichen Ausgang zu verhüten. Es ergab sich indess, dass dieses nicht der Fall war. Wohl gingen diejenigen Thiere, welche Serumgemische mit Cholera- bezw. Typhusserum erhalten hatten, im Allgemeinen etwas später ein als diejenigen, welche Enteritisserum mit Normalserum bezw. mit Coliserum vermischt bekommen hatten, indess war der Zeitunterschied kein grosser und zudem nicht einmal ein ganz constanter.

Es lag nun noch die Möglichkeit vor, dass das Blut unserer mit steigenden Mengen von Enteritisculturen vorbehandelten Versuchsthiere (Meerschweinchen, Kaninchen, Ziegen) specifisch antitoxische Fähigkeiten angenommen hatte, doch lieferten auch Untersuchungen nach dieser Richtung hin ein negatives Resultat. Wie der Versuch XII der Tabelle IV erkennen lässt, starben alle Serumthiere, und zwar erfolgte der Tod bei keinem derselben später, wohl aber z. Th. sogar noch früher als bei den Controlthieren, welche die gleiche Menge abgetödteter Enteritiscultur ohne Serum eingespritzt erhalten hatten. Und ein ganz gleiches Resultat wurde bei Mäusen erlangt, von denen einige nur abgetödtete Enteritisculturen, andere gleichzeitig Enteritisserum erhalten hatten. Die Serumthiere gingen auch hier nicht später ein, wie die Controlthiere.

Nach unseren im Vorstehenden mitgetheilten Erfahrungen müssen wir annehmen, dass sich unsere Versuchsthiere den Enteritisbakterien gegenüber wesentlich anders verhalten als gegenüber Typhus- oder Colibakterien. Bei den Hunden, welche Löffler und Abel (31) mit steigenden Dosen von Typhus- bezw. Colibakterien behandelten, nahm das Blut eine ausgesprochene, specifisch baktericide Wirkung gegenüber den Typhus- bezw. Colibakterien an. Meerschweinchen, denen sie die 50fache tödtliche Dosis und selbst noch mehr von ihren lebenden Typhus- bezw. Colibakterien in die Bauchhöhle einspritzten, vertrugen diesen Eingriff regelmässig, wenn der Bakterienaufschwemmung vor der Einspritzung ein wenig von dem Serum des mit Typhus- bezw. Coliculturen vorbehandelten Hundes zugesetzt war. Und ein ganz ähnliches Ergebniss lieferte uns

eine Ziege, die wir in ganz analoger Weise wie die Rumflether und Haustedter Ziege mit steigenden Mengen von Typhusbakterien behandelt hatten. Schon nach mehrmonatlicher Behandlung genügte ein Tropfen von dem Blutserum dieser Ziege, um Meerschweinchen, denen die 20fache tödtliche Minimaldosis lebender Typhusculturen eingespritzt wurde, am Leben zu erhalten, während Controlthiere, denen nur die einfache tödtliche Minimaldosis ohne Serum eingespritzt wurde, regelmässig vor Ablauf von 24 Stunden eingingen. Wurde bei diesen Serumthieren die Bauchhöhlenflüssigkeit $^1/_4$, $^1/_2$ bezw. 1 Stunde nach der Einspritzung mikroskopisch untersucht, so fanden sich von Anfang an nur unbewegliche Bakterien und wurden bei den weiteren Untersuchungen Bakterien in der Regel überhaupt nicht mehr aufgefunden, während bei den nicht mit Serum behandelten Controlthieren zur gleichen Zeit lebhaft bewegliche Typhusbakterien und zwar in steigender Menge in der Bauchhöhlenflüssigkeit nachgewiesen wurden.

Dass die Bildung bakteriolytischer bezw. specifisch baktericider Stoffe im Blute unserer mit Enteritisculturen vorbehandelten Thiere ausblieb, musste um so mehr auffallen, als das Blut derselben in Folge der Vorbehandlung schon frühzeitig eine specifisch agglutinirende Wirkung annahm, die bei fortgesetzter Behandlung schliesslich einen recht beträchtlichen Grad erreichte. Schon oben ist erwähnt, dass das der forcirten Immunisirung unterworfene Meerschweinchen ein Blutserum lieferte, welches einer Aufschwemmung der Haustedter Enteritisbakterien im Verhältniss von 1:25 zugesetzt innerhalb $^1/_4$ Stunde eine schon makroskopisch deutlich erkennbare Agglutination bewirkte. Das einem längere Zeit mit Rumflether Bakterien vorbehandelten Meerschweinchen aus der Carotis entnommene Blut agglutinirte noch bei einer Concentration von 1:100, und das Serum des mit Haustedter Bakterien vorbehandelten Kaninchens noch bei einer Concentration von 1:180. Ebenso nun lieferten die Ziegen bei der ersten Blutentnahme nach 7monatlicher Behandlung ein Serum, welches auch bei 1:100 innerhalb 1 Stunde makroskopisch agglutinirte. Das Agglutinationsvermögen nahm aber mit der fortgesetzten Behandlung derartig zu, dass schliesslich nach 17- bezw. 19monatlicher Behandlung das Serum der Rumflether Ziege noch bei 1:40000, dasjenige der Haustedter sogar noch bei 1:50000 innerhalb 1 Stunde eine schon makroskopisch ausgesprochene Agglutination bewirkte. Von einer 4 Wochen später bei der Haustedter Ziege entnommenen Blutprobe wurde festgestellt, dass das Serum noch bei 1:10000 rasch, dagegen bei 1:100000 nicht mehr agglutinirte. (Ueber die Wirksamkeit der zwischen beiden gelegenen Concentrationen waren hier keine Versuche angestellt worden.) Wie aus den mit den verschiedensten Serumproben angestellten Versuchen hervorging, agglutinirte

das Blutserum der mit dem Rumflether Stamm vorbehandelten Versuchsthiere (ein Meerschweinchen und eine Ziege) sowohl den Rumflether als auch den Haustedter Stamm in gleicher Weise, d. h. ebenso schnell und nahezu auch in denselben Verdünnungen. Umgekehrt brachte aber auch das Serum der mit dem Haustedter Stamme vorbehandelten Thiere (zwei Meerschweinchen, ein Kaninchen und eine Ziege) die Rumflether Bakterien regelmässig ebenso gut wie die Haustedter zur Agglutination. Es erwiesen sich aber nicht nur die bei der Rumflether und Haustedter Fleischvergiftung isolirten Enteritisstämme als identisch, sondern auch die aus der Milz der mit Euterentzündung behafteten Kuh von uns isolirten Bakterien, der Gärtner'sche Enteritisstamm von der Frankenhäuser und die van Ermengem'schen Stämme der Moorseeler und der Genter Fleischvergiftung wurden durch das Blutserum unserer Enteritisziegen in gleicher Weise beeinflusst. Dagegen wurden die zum Vergleich noch herangezogenen Enteritisbakterien von Känsche und Günther durch das hochwirksame (1:40000) Rumflether Ziegenserum erst agglutinirt in einer Concentration von 1:40. In dieser Concentration liess unser Ziegenserum dem Bacillus morbificans von Basenau sowie den bei den Fleischvergiftungen in Grünthal und Glückstadt aus der Pastete bezw. Wurst isolirten coliähnlichen Bakterien gegenüber jede agglutinirende Wirkung vermissen. Selbst bei noch stärkeren Concentrationen (1:30 bezw. 1:18) blieb hier jede Agglutination aus.

Hiernach musste man nicht nur die Grünthaler und Glückstadter coliähnlichen Bakterien, sondern auch den Morbificans bovii von Basenau sowie das Känsche'sche und Günther'sche Fleischvergiftungsbacterium als von dem Gärtner'schen, von den van Ermengem'schen und von den drei von uns isolirten Enteritisbakterien, die sämmtlich unter einander identisch waren, verschieden ansehen, wobei allerdings die bei Anwendung stärkerer Concentrationen (1:40) des Enteritisserums gelungene Agglutinirung des Känsche'schen und Günther'schen Bacteriums die letzteren als dem Enteritisbacillus näherstehende Arten ergab. Völlig negativ waren alle Versuche, mit unserem Enteritisserum der Ziegen bei einer grösseren Anzahl von Stämmen des Bacterium coli eine Agglutination hervorzurufen. Dieselbe blieb auch bei einer Verdünnung von 1:10 regelmässig aus.

Unter den Coli-Stämmen befanden sich vier bei Käsevergiftungen aufgefundene, von denen ich drei Prof. A. Holst in Christiania verdankte, während einer im hygienischen Institute aus einem Käse, der im Verdacht stand, eine Vergiftung veranlasst zu haben, isolirt war. Ein völlig negatives Resultat hatten auch alle Versuche, bei Bakterien der Hühnercholera, der Pest, der deutschen Schweinepest und des Löffler'schen Mäusetyphus eine Agglutinirung mit unserem hochwirksamen Ziegenserum

zu erzielen. Dagegen wurden Typhusbakterien, und zwar mehrere verschiedene Stämme, regelmässig durch Enteritisserum agglutinirt, wenn dasselbe in einer Concentration von 1:50 zur Einwirkung gelangte. Mit dem hochwirksamen Enteritisziegenserum wurde schon bei 1:100 innerhalb 2 Stunden eine makroskopisch erkennbare Agglutinirung der Typhusbakterien erzielt. Umgekehrt brachte auch unser oben erwähntes Typhusziegenserum, welches Typhusbakterien noch bei 1:5000 innerhalb 1 Stunde makroskopisch agglutinirte, die Gärtner'schen und die Haustedter Enteritisbakterien bei 1:50 innerhalb 1 Stunde makroskopisch zur Agglutinirung. Es weist dies jedenfalls auf das nahe verwandtschaftliche Verhältniss hin, welches zwischen dem Typhus- und Enteritisbacterium besteht, während sich zwischen den Enteritis- und Colibakterien derartige verwandtschaftliche Beziehungen bei entsprechenden Versuchen nicht erkennen liessen. Aehnliche Beobachtungen sind auch schon von anderer Seite gemacht. So hat nach Durham (23) Landsteiner im Gruber'schen Institute in Wien bereits festgestellt, dass Typhusserum auch den Gärtner'schen Enteritisbacillus agglutinirt, und Durham selbst berichtet in der citirten Abhandlung über vielfache eigene Beobachtungen, wonach das Serum von Typhuskranken bezw. Typhusreconvalescenten häufig noch in einer Verdünnung von 1:100 bezw. 1:200, ausnahmsweise sogar noch bei 1:500 bezw. 1:1000 die Gärtner'schen Enteritisbakterien agglutinirte, während zur Agglutination der Typhusbakterien meist allerdings schon 1:500 bezw. 1:1000 genügte. Einige Male war die agglutinirende Wirkung des von angeblichen Typhusreconvalescenten stammenden Blutserums auf den Gärtner'schen Bacillus sogar stärker als auf den Typhusbacillus, hier vermuthet Durham wohl mit Recht, dass ein Irrthum in der Diagnose vorgelegen habe, dass das Blutserum nicht von einem Typhusreconvalescenten stamme, sondern von einem, der eine Infection mit dem Gärtner'schen Bacillus durchgemacht habe. Interessant ist in dieser Beziehung die Beobachtung, die er an sich selbst gemacht hat. Im April 1896 überstand er eine fieberhafte Erkrankung, die er für Typhus hielt, von der es aber bei den wenig ausgesprochenen Krankheitserscheinungen zweifelhaft blieb, ob es sich wirklich um Typhus handelte. Anfangs 1897 reagirte sein Blutserum bei einer Concentration von 1:200 auf Typhusbakterien positiv, ein halbes Jahr später nur noch bis 1:100, und Anfangs 1898 gar nicht mehr. Dagegen gab es jetzt bei 1:200 mit dem Gärtner'schen Bacillus, der früher noch nicht zur Untersuchung herangezogen war, positive Reaction.

Nach Durham bringt ein von vorbehandelten Thieren gewonnenes, kräftig agglutinirendes Typhusserum regelmässig auch eine Agglutination des Gärtner'schen Bacillus zu Stande, nur bedarf man dazu weit stärkerer

Concentrationen. Mit Gärtner-Culturen behandelte Thiere sollen dagegen ein Serum geliefert haben, welches Typhusbakterien nicht immer agglutinirte. Während das erstere mit unseren Erfahrungen völlig übereinstimmt, liessen unsere Enteritissera bei starker Concentration eine Einwirkung auf die Typhusbakterien nie vermissen. Möglicher Weise beruht dieser Unterschied darauf, dass zur Gewinnung des Gärtner-Serums von Durham nicht nur der Gärtner'sche Stamm, sondern eine von ihm isolirte, als Varietät des Gärtner'schen Bacillus aufgefasste Art benutzt wurde.

Nach Durham ist mit hochwirksamem, von vorbehandelten Thieren gewonnenem Typhusserum die Unterscheidung des Typhus- und des Gärtner'schen Bacillus mittels der Gruber'schen Reaction leicht, insofern der letztere erst bei Anwendung des Serums in wesentlich stärkerer Concentration agglutinirt wird. Benutzt man dagegen das Serum von Typhus-Reconvalescenten, dessen agglutinirende Wirkung eine viel schwächere ist, so ist eine Unterscheidung beider Bakterien oft nicht möglich.

Wenn somit unsere Erfahrungen mit den Durham'schen insofern übereinstimmen, als bei starker Concentration unsere Enteritissera auch Typhusbakterien und umgekehrt unser Typhusserum auch Enteritisbakterien agglutinirte, so weichen unsere Erfahrungen in Betreff der schützenden Wirkung dieser Sera von denjenigen Durham's total ab. Letzterer vertritt die Ansicht, dass ein kräftig agglutinirendes Serum immer auch eine starke schützende Wirkung gegenüber den agglutinirten Bakterien an den Tag legt. Unser stark agglutinirendes Enteritisserum liess aber, wie wir gezeigt haben, jede schützende Wirkung gegenüber den Enteritisbakterien vermissen. Aus einigen Aeusserungen Durham's ist nun noch zu entnehmen, dass er nicht nur an hochwirksamem Typhusserum, sondern auch an dem Serum von Personen, die 4 Wochen vorher eine Fleischvergiftung durchgemacht hatten, in Thierversuchen eine schützende Wirkung gegenüber den Enteritisbakterien beobachtet hat. So schreibt er einmal (23): Those typhoid sera, wich are efficient in vitro, have considerable protective power against the two members of Gärtner group, which I have tried, und die zweite Abhandlung im British medical Journal (22) ist betitelt: On a epidemic of gastroenteritis associated with the presence of a variety of the Bacillus enteritidis Gärtner and with positive serodiagnostic evidence in vivo and in vitro. In dem Autoreferat über die erste Abhandlung (22) heisst es schliesslich: Das Serum tödtlich inficirter Thiere kann noch agglutiniren, es kann aber auch präventive Eigenschaften besitzen. Da über diese Thierversuche gar nichts weiter mit-

getheilt ist, vermögen wir uns nicht zu erklären, wie er zu diesem von unseren Erfahrungen völlig abweichenden Ergebniss gekommen ist.

Wie wir von ihm erfahren (22), hat bei 18 von 29 Individuen, die 4 Wochen vorher eine Fleischvergiftung überstanden hatten, das Serum den Gärtner'schen Bacillus noch in einer Verdünnung von 1:100 und darüber agglutinirt, während dasselbe auf Typhusbacillen erst in einer Verdünnung von 1:10 agglutinirend wirkte. Bei einer zweiten durch Kalbfleischpastete bewirkten Vergiftung, bei welcher 56 Personen erkrankten und 4 davon starben, wurden 19 Serumproben mit positivem Resultat untersucht, und agglutinirten 9 davon gewisse Rassen von Bacillus enteritidis in höheren Verdünnungen.

Wir selbst haben bisher keine Gelegenheit gehabt, das Serum solcher Personen, die eine Fleischvergiftung überstanden haben, auf ihre Agglutinirfähigkeit gegenüber Enteritisbakterien zu prüfen; nach dem Ausfall unserer Thierversuche ist es aber kaum zu bezweifeln, dass das Serum derartiger Personen auf die Enteritisbakterien agglutinirend wirkt, so dass unter Umständen auch selbst längere Zeit nach bereits überstandener Fleischvergiftung mit Hülfe des Serums noch nachträglich die Diagnose gestellt werden kann.

Durham verlangt für die Serumdiagnostik unter solchen Umständen, dass „viele Stämme des Bacillus (enteritidis Gärtner) verschiedener Provenienz sowie Typhusbacillen versucht werden". Wir würden auf unsere Erfahrungen gestützt empfehlen, ausser dem Gärtner'schen Enteritisbacillus womöglich auch noch die Fleischvergiftungsbacillen von Känsche und Günther, den Bacillus morbificans von Basenau und das Grünthaler Bacterium, da sie sicher mit dem Gärtner'schen nicht identisch sind, zur Prüfung mit heranzuziehen. Würden in dieser Weise die in ihrer Entstehung oft so dunklen Erkrankungsfälle, die unter dem Bilde einer Gastroenteritis, eines gastrischen Fiebers, eines zweifelhaften Typhus verlaufen, häufiger serodiagnostisch untersucht, so würden wahrscheinlich manche derselben als durch den Genuss des Fleisches kranker Thiere hervorgerufen erkannt werden.

Kiel, 21. November 1901.

Litteratur-Verzeichniss.

1. van Ermengem, Ueber einen neuen anaëroben Bacillus und seine Beziehungen zum Botulismus. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXVI. S. 1.

2. Ostertag, *Handbuch der Fleischbeschau.* 3. Aufl. Stuttgart 1899. S. 731 und 737.

3. Levy, Experimentelles und Klinisches über die Sepsinvergiftung und ihren Zusammenhang mit dem Bacterium Proteus. *Archiv für experim. Pharm. u. Path.* 1895.

4. Wesenberg, Beitrag zur Bakteriologie der Fleischvergiftung. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXVIII. S. 484.

5. Glücksmann, Fleischvergiftung, verursacht durch Bac. proteus vulgaris. *Centralblatt für Bakteriologie.* Abth. I. Bd. XXV. S. 696.

6. Silberschmidt, Ein Beitrag zur Frage der sogen. Fleischvergiftung. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXX. S. 328.

7. A. Pfuhl, Massenerkrankung nach Würstgenuss. *Ebenda.* Bd. XXXV. S. 265.

8. Hamburger, Bijdrage tot de bacteriologie der vleeschvergiftiging. Bacillus cellulaefornans. *Nederl. Tijdschr. v. Geneesk.* Bd. II. p. 161. — Ref. Baumgarten's *Jahresbericht.* 1896. S. 510.

9. Gaffky u. Paak, Ein Beitrag zur Frage der sogen. Wurst- und Fleischvergiftungen. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* Bd. VI. S. 159.

10. Gaffky, Erkrankungen an infectiöser Enteritis in Folge des Genusses ungekochter Milch. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1892. Nr. 14.

11. Petri, Ueber die Verwerthung der rothen Salpetrigsäure-Indolreaction zur Erkennung der Cholerabakterien. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* Bd. VI. S. 12.

12. Basenau, Ueber eine im Fleisch gefundene infectiöse Bakterie. *Archiv für Hygiene.* Bd. XX. S. 242.

13. Derselbe, Verdere bijdragen tot de geschiedenis von de vleeschvergiftigingen. *Dissertation.* Amsterdam. — Ref. Baumgarten's *Jahresbericht.* 1897. S. 678. — Ostertag, *Handbuch der Fleischbeschau.* 1899. S. 738—41.

14. Gärtner, Ueber die Fleischvergiftung in Frankenhausen a/Kyffh. und den Erreger derselben. *Correspondenzblätter des allg. ärztl. Vereins von Thüringen.* 1888. Nr. 9.

15. Karlinski, Zur Kenntniss des Bacillus enteritidis Gärtner. *Centralblatt für Bakteriologie.* Abth. I. Bd. VI. S. 289.

16. *XXI. Jahresbericht des Landes-Medicinal-Collegiums über das Medicinalwesen im Königreich Sachsen auf das Jahr 1889.* Leipzig 1891. — *Bericht über das Veterinärwesen im Königreich Sachsen für das Jahr 1894.*

17. **Lubarsch**, Ein Fall von septischer Pneumonie beim Neugeborenen, verursacht durch den Bacillus enteritidis Gärtner. Virchow's *Archiv*. Bd. CXXIII. 1891. S. 70.

18. **P. F. Holst**, Bakteriologische Untersuchungen über die Massenvergiftung in der Irrenanstalt Gaustadt im Jahre 1891. Bakt. Undersolgelser foretagne i anledning of Masseforgiftningen paa Gaustadt Sindsyge asyl i. 1891. *Norsk. Mag. f. Laegevidenskaben*. 1894. Nr. 9. — Ref. Baumgarten's *Jahresber*. 1894. Bd. X. S. 326.

19. **Poels u. Nolen**, Vleschvergiftingen te Rotterdam. *Handeling van het Med. Natuur- en Geneeskundig-Congress*. 1894. — Poels u. Dhont, Fleischvergiftung. *Holländische Zeitschrift für Thierheilkunde*. Bd. XXIV. S. 187.

20. **van Ermengem**, Recherches sur les empoisonnements produits par de la viande de veau à Moorseele. *Bull. Acad. med. de Belgique*. 1892. — Des intoxications alimentaires. *Ebenda*. 1895. — Recherches sur des cas d'accidents alimentaires produits par des saucisses. *Revue d'Hygiène*. 1896. Nr. 9.

21. **Schaef**, Bericht über die in Horb und Umgebung im September 1896 vorgekommenen Erkrankungen nach Genuss von Leberwurst. *Med. Correspondenzblatt des württ. ärztl. Landesvereins*. Bd. LXVII. S. 391. — Ref. Baumgarten's *Jahresbericht*. 1897. S. 679.

22. **Durham**, On an epidemic of gastro-enteritis associated with the presence of a variety of the Bacillus enteritidis (Gärtner) and with positive sero-diagnostic evidence in vivo and in vitro. *British med. Journal*. Vol. II. p. 600. — An Address on the present knowledge of ontbreaks due to meat poisoning. *Ebenda*. p. 1797. — Ref. Baumgarten's *Jahresbericht*. 1898. S. 580.

23. **Derselbe**, On the serum diagnosis of typhoid fever, with especial reference to the bacillus of Gärtner and its allies. *The Lancet*. 1898. p. 154.

24. **Barker**, Note on cases of meat poisoning. *British med. Journal*. Vol. II. p. 1367.

25. **Günther**, Bakteriologische Untersuchungen in einem Falle von Fleischvergiftung. *Archiv für Hygiene*. Bd. XXVIII.

26. **Silberschmidt**, Ueber eine Fleischvergiftung. *Correspondenzblatt für Schweizer Aerzte*. 1896. Nr. 8. — Ref. Baumgarten's *Jahresbericht*. 1896. S. 509.

27. **Stadler**, Ueber die Einwirkung von Kochsalz auf Bakterien, die bei den sogen. Fleischvergiftungen eine Rolle spielen. *Archiv für Hygiene*. Bd. XXXV. S. 40.

28. **Kaensche**, Zur Kenntniss der Krankheitserreger bei Fleischvergiftungen. *Diese Zeitschrift*. Bd. XXII.

29. **Fischer**, Ueber einige bemerkenswerthe Befunde bei der Untersuchung choleraverdächtigen Materials. *Deutsche med. Wochenschrift*. 1893. Nr. 24.

30. **Pfeiffer u. Issaeff**, Ueber die specifische Bedeutung der Choleraimmunität. *Diese Zeitschrift*. Bd. XVII. S. 355.

31. **Löffler u. Abel**, Ueber die specifischen Eigenschaften der Schutzkörper im Blute typhus- und coli-immuner Thiere. *Festschrift zur 100 jähr. Stiftungsfeier des med.-chir. Friedrich-Wilhelm-Instituts*. Berlin 1895.

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. VI u. VII.)

Fig. 1. 2 Tage alte Gelatineplatten-Colonieen der Rumflether Enteritisbakterien. Vergrösserung ca. 50 Mal.

Fig. 2. 3 Wochen alte oberflächlich gelegene Gelatineplatten-Colonie der Rumflether Enteritisbakterien. Vergrösserung ca. 30 Mal.

Fig. 3. 2 Tage alte Gelatineplatten-Colonieen der Rumflether Enteritisbakterien. Vergrösserung ca. 50 Mal.

Fig. 4. 3 Tage alte Gelatineplatten-Colonieen des Gärtner'schen Enteritisbacillus. Vergrösserung ca. 30 Mal.

Fig. 5. Nierenschnitt einer Maus, die nach Fütterung mit Rumflether Fleisch eingegangen war. Enteritisbakterien in den Capillaren in haufenförmiger Anordnung. Vergrösserung ca. 350 Mal.

Das Wasserreinigungsverfahren mit Brom.

Von

Dr. **Schumburg**,
Oberstabsarzt und Privatdocent in Hannover.

Im 37. Bande der Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten hat Schüder die Ergebnisse seiner Nachprüfung meines Bromverfahrens zur Wasserreinigung veröffentlicht und kommt daraufhin zu dem Urtheil, dass das Verfahren „den Cholera- und Typhusbakterien gegenüber so gut wie ganz versagt", dass meine und die später von A. Pfuhl angestellten Versuche keine „beweisende Kraft" hätten, weil die ausgesäten Wassermengen (in der Regel 3 ccm von 1 Liter) zu gering wären, und weil ich die groben Bröckel der Culturaufschwemmung, die ich zur Infection des Versuchswassers benutzte, abfiltrirt und nicht mit desinficirt hätte. Die Schüder'schen Vorwürfe beziehen sich also einmal auf die geringen Mengen meines Untersuchungsmaterials, zweitens auf die Filtration der Culturaufschwemmung.

Zunächst einige Worte über die Aussaat von nur wenigen Cubikcentimetern von Flüssigkeiten, deren Keimgehalt man feststellen will. Seit dem Jahre 1881, der Zeit der grundlegenden Arbeiten Koch's, hat die Aussaat weniger Cubikcentimeter allen Ansprüchen genügt. Seit jener Zeit sind Millionen derartige Versuche angestellt, ohne dass auch nur ein Mal ein theoretischer (will sagen Laboratoriums-) oder gar ein praktischer Misserfolg, z. B. eine Schädigung durch das sterilisirte Wasser, zu verzeichnen gewesen wäre: Waren von einem Liter Wasser 3 ccm steril, dann war es auch der übrige Theil des Liters. Diese von Koch angegebene und von ihm stets geübte und auch von mir verwendete Versuchsanordnung, glaubt Schüder als Versuchsfehler bezeichnen zu müssen, eine Methode, die seit Koch Tausende von Bakteriologen auf dem ganzen Erdenrund mit Erfolg benutzten, auf Grund deren unsere ganze Kenntniss

und Lehre von der Desinfection geschaffen ist. Ist diese Versuchsanordnung falsch, nun dann sind eben die Lehren von der Desinfection mindestens noch nicht experimentell fest begründet.

Schüder verlangt, dass man — wenigstens bei Versuchen mit Choleraspirillen, aber auch sinnentsprechend bei Typhus und demnach wohl bei allen Desinfectionsversuchen — nicht Aussaaten von einigen Cubikcentimetern macht, sondern dass „man die ganze mit Choleravibrionen inficirte Waassermenge durchsucht". Bei den Typhusversuchen goss Schüder Platten mit 10 ccm Wasser, unter Umständen würde er „noch grössere Wassermengen verarbeitet" haben. Für gewöhnlich ist ja dies für Choleraspirillen durchaus berechtigte und auch von mir in meiner Arbeit geübte Verfahren durch Umwandlung des ganzen zu untersuchenden Wassers zu Peptonnährböden behufs Anreicherung sicherlich mit Vortheil anwendbar. Wie aber will Schüder es durchführen, wenn er z. B. ein zweckmässiges Verfahren zur Desinfection von Cholera-Badewässern ermittelln will? Wenn man auch im Allgemeinen bei einem solchen Versuche sich mit kleineren Wassermengen (einigen Litern) behilft, so muss man doch gelegentlich, zum Studium erfolgreicher Durchmischung und dergleichen, die Versuche durchaus der Wirklichkeit anpassen. 200 Liter Badewasser bei einem einzelnen Versuch auf Erlenmeyerkolben zu vertheilen und zu Peptonwassernährböden zu verarbeiten und zu durchmustern, dürfte selbst den Etat eines so gut dotirten Instituts wie dasjenige für Infectionskrankheiten übersteigen. Ich glaube deshalb, das Schüder'sche Verlangen hat seine Grenzen und ist innerhalb eines bescheidenen Rahmens eben nur für Choleraspirillen durchführbar. Beim Arbeiten mit Typhus sind dem Schüder'schen Verlangen, da hier ja natürlich das Wasser nur zu Platten verarbeitet werden kann, erst recht enge Grenzen gezogen. Innerhalb solcher Schranken aber durchsuchen, wenn es nöthig ist, wohl alle Bakteriologen die gesammte Wassermenge nach Choleraspirillen. Für alle anderen Bakterienspecies aber muss schon die alte und noch immer neue Koch'sche Vorschrift von der Einsaat weniger Cubikcentimeter in Agar oder Gelatine — viel mehr als 10 wird man kaum einbringen können — Geltung behalten.

Die zweite Schüder'sche Ausstellung bezieht sich darauf, dass ich die Bröckel der Culturaufschwemmung, die ich dem zu desinficirenden Wasser zusetzte, abfiltrirt hätte. Ich hätte damit Verhältnisse geschaffen, wie sie der Wirklichkeit nicht entsprächen.

Nun, dem ist nicht so. Wenn man eine bei gewöhnlicher genauer Besichtigung fast völlig klare Aufschwemmung einer Cholera-Agarcultur, deren Culturfetzen zu Boden gesunken sind, nachdem man decantirt hat, centrifugirt, so findet man im Bodensatz noch immer recht deutliche

Zoogloeen, die mikroskopisch aus fest an einander haftenden Vibrionen bestehen. Auf der Oberfläche dieser Bröckchen schlägt sich beim Desinfectionsversuch mit Brom eine Schicht Brom-Eiweiss nieder, das die tiefer liegenden Bakterien vor der Einwirkung des Broms schützt. Bringt man solch' ein Bröckchen in Nährbouillon, so löst es sich allmählich und die tiefer liegenden, durch Brom nicht abgetödten Bakterien kommen an die Oberfläche und entwickeln sich weiter. Auf das Vorhandensein solcher im Laboratoriumsversuch, aber nie im Trinkwasser bisher beobachteten Bröckchen führte ich schon im Jahre 1897, als ich damals persönlich mit Schüder conferirte, einen Theil der Schüder'schen Misserfolge bei der Bromdesinfection zurück, nachdem ich durch eine Menge Versuche, von denen Schüder auf S. 313 einen anführt, diese Meinung als richtig erwiesen hatte. Wir kommen also durch Ausschaltung solcher Bröckel der Wirklichkeit nahe, wir entfernen uns nicht von ihr, wie Schüder meint. Denn bisher hat Niemand solche Bröckel aus Zoogloeen bestehend im Trinkwasser gesehen, auch Schüder hat, soweit mir bekannt ist, keine solche Beobachtung veröffentlicht. Es ist auch bei der Bewegung des Wassers oder der Einwirkung der Saprophyten u. dergl. auch gar nicht wahrscheinlich, dass Zoogloeen, wie sie bei einer Agarcultur-Aufschwemmung vorkommen, sich im Trinkwasser aus Brunnen oder gar aus Oberflächenwasser vorfinden. Es wäre gewiss sehr schön, wenn ein Desinfectionsmittel auch solche Zoogloeen-Bröckel im Laboratoriumsversuch zerstören könnte, ja es wäre noch besser, wenn die härtesten Scybala als solche keimfrei gemacht werden könnten, aber nöthig für die Praxis ist das nicht. Eine Grenze muss also für den Laboratoriumsversuch gezogen werden, und deshalb genügt es meines Erachtens — und ich befinde mich da in erfreulicher Uebereinstimmung mit vielen Bakteriologen, — wenn wir Verhältnisse beim Laboratoriumsversuch schaffen, wie wir sie fast stets im Flusswasser finden, wenn wir nämlich die groben Zoogloeen der Culturaufschwemmungen durch Filtration wegschaffen und nur die freien Bakterien oder die kleineren Verbände bis 6 bis 8 bis 10, wie sie durch die Papierfilter hindurchgehen, für die Desinfectionsversuche benutzen.

Ein Missverständniss, das Schüder untergelaufen ist, bedarf noch der Aufklärung. Schüder hat (S. 317) aus meiner Arbeit die Ansicht gewonnen, dass ich vorhätte, zum Beispiel auf einem Marsch die gesammten den Truppen zu verabreichenden Wassermengen durch Papierfilter zu filtriren. Welche Mengen Papier und Filter müssten da mitgeführt werden, ruft Schüder verzweifelt auf Seite 317 seiner Arbeit. Nun, in meiner Arbeit steht von einer solchen Absicht, wie sie mir Schüder unterschiebt, Nichts. Ich habe nur vorgeschlagen, grobe, sichtbare Ver-

unreinigungen des Trinkwassers — darunter verstehe ich Holzstückchen, Blätter, Schlammtheile und Aehnliches — durch „improvisirte Schnellfilter" zu entfernen. Mit „Schnellfiltern" bezeichnet man doch Sandtonnen, Seihtücher u. dergl. **Papierfilter habe ich nur im Laboratoriumsversuch, aber zu ganz anderen Zwecken verwendet**, nämlich um die Zoogloea-Bröckchen der abgeschabten Agarculturen zurückzuhalten, aber nie zu dem Zweck, Holz oder Blätter zu entfernen. Die in ganz verschiedenem Zusammenhang an ganz weit von einander entfernten Stellen meiner Arbeit stehenden Sätze, in denen einerseits Papierfilter für die Laboratoriumsversuche, andererseits „Schnellfilter" für die Praxis vorkommen, hat Schüder missverständlicher Weise als zusammen gehörig aufgefasst. Ueber die Verwendung von Schnellfiltern aus Sieben, Sand oder Leinwand habe ich mehrere Conferenzen mit Vertretern der Medicinal-Verwaltung unserer Colonieen gehabt, aber niemals haben wir dabei an die Verwendung von Papierfiltern gedacht, wie wir sie im Laboratorium verwenden.

Eine Beobachtung Schüder's, oder eigentlich Proskauer's, muss ich dankbar anerkennen, das ist die Feststellung, dass die zugeschmolzenen Brom-Röhrchen zu 0·06 ^grm^ und 0·3 ^grm^ (für 1 und für 5 Liter) nur selten den richtigen Bromgehalt aufwiesen. Durch eine Nachprüfung habe ich mich von der vollkommenen Richtigkeit dieser Thatsache überzeugt. Ich habe indess von vorn herein wegen der technischen Schwierigkeit der Dosirung so kleiner Brommengen auf die kleinen Röhrchen für 1 Liter und für 5 Liter Wasser verzichtet und deshalb für militärische Zwecke lediglich die Brom-Menge für 100 Liter einschmelzen lassen. Hierbei werden die Fehlerquellen für die Dosirung erheblich kleiner. Jedenfalls ist die richtige Dosirung der Bromflüssigkeit wie der — leichter abzumessenden — Neutralisirungssalze Voraussetzung für die Wirksamkeit des Bromverfahrens und ich bin überzeugt, dass die Firma Kade für die 100 Liter-Röhrchen nur ausnahmslos vollwerthige Dosen von jetzt ab liefern wird. Auch in der Technik gelingt nicht gleich Alles beim ersten Anlauf.

Nun zur Hauptsache. Schüder gelang es nicht, mit der Brommenge von 0.06 ^grm^ Brom auf je 1 Liter Wasser die darin ausgesäten Cholera- und Typhusbacillen abzutödten. Wie das zugegangen ist, kann ich nicht erklären. Jedenfalls ist im Jahr 1897, bevor ich das Bromverfahren bekannt gab, von 18 verschiedenen Laboratorien eine genaue Nachprüfung des Verfahrens unternommen worden, unter Anderen von Schüder in Posen und im Institut für Infectionskrankheiten in Berlin von Hrn. von Schab und, wenn ich mich recht erinnere, von Vagedes. Viele, ja fast alle Untersucher hatten allerlei Ausstellungen zu machen an der äusseren

Form des Verfahrens, die damals noch recht mangelhaft war, wie ich zugeben muss. Ueber die baktericide Kraft des Broms in der Verdünnung 0·06:1000 gegenüber Cholera- und Typhusbacillen waren alle einig bis auf Schüder. Im Ganzen mögen damals einige Tausend Versuche angestellt sein mit den allerverschiedensten Versuchsanordnungen und -Bedingungen: Nur die Schüder'schen Versuche fielen negativ aus. Oberstabsarzt A. Pfuhl hat übrigens auch unter genauester Innehaltung der neuen Schüder'schen Versuchsanordnungen jetzt wieder die Wirksamkeit des Broms im Gegensatz zu Schüder erweisen können. Er wird die Ergebnisse dieser neuesten Nachprüfung in einer besonderen Arbeit bringen. Im Uebrigen muss ich bemerken, dass ich mir gar nicht das Verdienst, die baktericide Kraft des Broms erkannt zu haben, vindiciren darf, die bedeutende keimtödtende Eigenschaft hat niemand Geringerer als Robert Koch selbst in seiner grundlegenden Desinfectionsarbeit vom Jahre 1881 auf Grund vollständig einwandsfreier Versuche dem Brom zuerkannt und es fast in eine Reihe mit dem Sublimat gestellt.

Ich muss deshalb auf jeden Fall und trotz Schüder daran festhalten, dass 0·06 pro mille freien Broms Cholera- und Typhusbacillen im Wasser sicher abtödtet, ferner daran, dass es gelingt, auf einfache Weise das Brom wieder aus dem Wasser herauszuschaffen und so ein durchaus schmackhaftes Trinkwasser zu erzeugen, schliesslich daran, dass es gelungen ist, das Verfahren in eine für praktische Verhältnisse geeignete Form zu bringen.

Da Schüder die Beweiskraft aller derjenigen Desinfectionsversuche anzweifelt, bei denen nicht die ganze oder eine grössere Wassermenge verarbeitet wurde, so hoffe ich, dass zur Wahrung ihrer berechtigten Interessen in dieser Angelegenheit noch andere Untersucher das Wort ergreifen werden, die nicht nach Schüder'schen Vorschriften gearbeitet haben. Und das sind seit und mit Koch so ziemlich alle Bakteriologen.

Nachtrag.

In einer mir nach der Correctur vorstehender Bemerkungen zu Gesicht gekommenen Arbeit von Schüder: „Ueber das Hünermann'sche Verfahren der Wasserdesinfection u. s. w."[1] gelangt Schüder bei seinen Nachprüfungen zu demselben aberkennenden Resultat wie bei meinem Bromverfahren; er verallgemeinert daraufhin in einem Schlusswort sein Urtheil über Wasserdesinfectionsmittel und präcisirt seine Anforderungen an die Methodik. Das Wichtigste daraus ist, dass „eine der Eigenart des zum Versuch benutzten Bacteriums entsprechende Anreicherungsmethode vor dem Plattenverfahren einzuschalten ist" und bei der Untersuchung auf Choleravibrionen weiter: „Ein Controlversuch hat nur nachzuweisen, dass das zu den Versuchen benutzte Wasser keine Rothbildner von vornherein enthalten hat".

In diesem — durchaus zu verlangenden — Controlversuch liegt aber der wunde Punkt der Schüder'schen Versuchsanordnung.

Wenn Schüder verlangt, dass wir nach vollendeter Desinfection die ganze desinficirte Wassermenge nach Choleravibrionen durchsuchen sollen unter Benutzung des Anreicherungsverfahrens, dann verlange ich genau mit demselben Recht, dass Schüder die ganze zum Versuch zu benutzende sterilisirte Wassermenge **vor** der Infection und Desinfection nach Choleravibrionen durchsucht oder wenigstens nach Rothbildnern und zwar **gleichfalls** unter Benutzung des Anreicherungsverfahrens. Erfüllt Schüder diese Forderung, nun, dann hat er eben kein Wasser mehr zum Versuch; der Versuch kann nicht ausgeführt werden; die Schüder'schen Prinzipien sind unerfüllbar. Erfüllt er sie nicht, benutzt er nur Theile — und wären es die allergrössesten — des Versuchswassers zur Controle, dann hat sein Versuch eine stets angreifbare Lücke. Alle diese Erwägungen

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXIX. S. 379.

sind nicht nur theoretischer Natur; hat doch A. Pfuhl bei der demnächst in dieser Zeitschrift erscheinenden Nachprüfung der Schüder'schen Versuchsanordnung in sterilisirtem Versuchswasser Rothbildner — mögen sie nun sehr widerstandsfähige Wasserbakterien oder nie ganz zu vermeidende Luftkeime sein — gefunden, die nicht Choleravibrionen waren. Auch bei Schüder wuchsen auf Platten, die mit „sorgfältig sterilisirtem" Wasser[1] und Choleravibrionen beschickt waren, andere Colonieen, die Schüder für Luftkeime ansah.

Ich gestehe also Schüder für gewisse Fälle gern seine rigorosen Forderungen an die Technik bei der Desinfectionsprüfung zu, dann verlange ich aber als Gegenleistung ebenso strenge Controlen. An den Controlen besonders erkennt man die Güte einer Versuchsanordnung; in ihrem Licht aber schrumpfen die Schüder'schen Forderungen zu einem theoretischen Schemen zusammen.

---

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXIX. S. 392.

Zu den Schüder'schen Prüfungsversuchen des Bromverfahrens nach Schumburg.

Von

A. Pfuhl
in Hannover.

Die so überaus ungünstigen Mittheilungen Schüder's über die von ihm bei der Prüfung des Schumburg'schen Verfahrens der Wasserreinigung mittels Brom gewonnenen Ergebnisse, sowie die Bemängelung meiner eigenen bezüglichen Untersuchungen[1], veranlassen mich, ebenfalls in dieser Sache das Wort zu ergreifen.

Ich habe die Schüder'schen Versuche vor Kurzem einer Nachprüfung unterzogen, mich dabei aber auf dessen Versuchsanordnungen bei der Feststellung der Einwirkung des Broms auf Choleravibrionen und Typhusbacillen im Wasser beschränkt, da nur diese von meinen Resultaten abwichen.

Wenn man Punkt für Punkt den Angaben des genannten Autors folgt, so erhält man im Allgemeinen, wenige Ausnahmen abgerechnet, dieselben Befunde wie dieser. Das war mir von vornherein auch nicht verwunderlich; denn Schumburg und ich haben bereits festgestellt, dass das Brom im Wasser in dem angegebenen Verhältniss seine tödtende Kraft nur dann voll entwickelt, wenn die Agaraufschwemmungen der beiden betreffenden Bakterienarten zuvor durch gehärtete[2] Filter von gröberen Bröckeln des Nährbodens und grösseren Culturfetzen befreit sind. Geschieht dies nicht, so versagen nicht bloss das Brom, sondern auch das verwandte Chlor sehr häufig ihren Dienst. Sie gleichen hierin der 1 pro mill. Sublimatlösung, bekanntlich dem stärksten aller in

---

[1] *Diese Zeitschrift.* 1900. Bd. XXXIII.

[2] Zur Behebung von Missverständnissen bemerke ich noch besonders, dass, wo es nicht ausdrücklich anders lautet, bei allen Filtrationen sogenannte gehärtete Filter zur Benutzung kamen.

Frage kommenden Desinfectionsmittel, gegenüber eiweisshaltigen Substanzen. Chlor und Brom werden wahrscheinlich an der Einwirkung auf die ziemlich derben Bröckel, ebenso wie das Sublimat, durch Bildung einer Eiweissgerinnung an deren Oberfläche verhindert. Unter den natürlichen Verhältnissen, d. h. bei der Infection von Flussläufen, stagnirenden Wässern, Brunnen u. s. w. müssen wir ähnliche Verhältnisse, wie bei den filtrirten Aufschwemmungen oder Bouillon- und Peptonwasserculturen annehmen. Es handelt sich bei den Abgängen Typhus- und Cholerakranker, mit Ausnahme der abortiven Fälle, meist um dünne, nahezu wässerige Massen, namentlich bei den letzteren. Die winzigen Schleimflöckchen in den betreffenden Stühlen, die ein viel lockereres Gefüge haben, als die Zoogloea der Culturfetzen, oder grobe Bröckel, senken sich theils schnell in die Tiefe, theils werden sie in der unverhältnissmässig grossen Wassermenge sofort weithin verstreut. Die Typhus- und Cholerabacillen aber lösen sich grösstentheils von den Schleimflöckchen oder derberen Massen los und suchen bei ihrem ausgesprochenen Sauerstoffbedürfniss die Oberfläche des Wassers auf, die eben meist frei von Flöckchen oder Bröckeln sein wird. Man hat es also beim Schöpfen aus derartigen Wasserquellen, wobei doch Niemand die schlammige Tiefe aufwühlen, im Gegentheil dieses Vorkommniss gerade peinlichst vermeiden wird, in der That gewöhnlich nur mit den Bacillenleibern selbst zu thun.

Versuche im Kleinen (mit 200 ccm bis 10 Litern Wasser) haben mir den Beweis hierfür erbracht. Wenn man einen dünnen Typhusstuhl (etwa 200 ccm) in einem zugedeckten Standgefäss ruhig stehen lässt und nach 1 bis 24 Stunden verschiedene Oesen von der Oberfläche im hängenden Tropfen untersucht, so sieht man in der Regel nur ganz wenige kleine Pflanzen-Zellen, Fäserchen und kleinste lockere Bröckel, zwischen denen die Bacillen meist frei umherschwimmen oder, wenn unbeweglich, ausgebreitet liegen. Eine Anzahl davon hängt wohl auch an den Fasern selbst fest.

Setzt man nun zu mehreren hundert Cubikcentimetern oder einigen Litern Wasser geringe Mengen (1 bis 5 oder 10 ccm) von den obersten Schichten dieses dünnen Stuhles hinzu, so sind nach kurzem Stehenlassen der Wasserproben in den hängenden Tropfen nur ganz vereinzelte Zellen oder Fäserchen noch anzutreffen, zwischen denen die Typhusbacillen sich umherbewegen. Wird die Verdünnung noch grösser, so dass die Wasserproben keine Spur von gelblicher Färbung mehr zeigen, so enthalten die Tropfen überhaupt nur noch Bacillen; oder es gelingt doch nur in einzelnen Tropfen, ab und zu eine solche Zelle oder Trümmer davon nachzuweisen. Ganz gleiche Verhältnisse lassen sich bei stark verunreinigtem, trübem Flusswasser nach mehreren Regentagen auf

Zusatz von Typhus- und Cholerabacillenculturen, oder mit solchen inficirten dünnen Stuhlgängen feststellen.

Diese pathogenen Bakterien werden aber in dem schlechten Nährboden, den das Wasser in Flüssen, Teichen u. s. w. an sich schon darstellt. gewiss eine nur sehr geringe Lebensfähigkeit besitzen. Jedenfalls kann man von vornherein annehmen, dass sie auch nicht entfernt derjenigen gleichkommen wird, die auf unseren künstlichen Nährböden bei 37° im Brütschrank gezüchtete frische Culturen aufweisen. Hierzu kommen als weitere schwächende Momente Sonnen- oder zerstreutes Tageslicht, andere im Wasser enthaltene Bakterienarten, chemische Verunreinigungen, niedere Temperaturen u. s. w. Auch wird man es immer nur mit einer weit geringeren Menge von Keimen zu thun haben, als beim künstlichen Versuch, selbst wenn man nur drei oder eine Oese der Culturaufschwemmung einem Liter Wasser zusetzt. Enthält das geschöpfte Wasser aber thatsächlich Beimengungen grobsinnlicher Art, ist es getrübt, missfarben oder übelriechend, so wird Niemand ein solches Wasser, schon aus rein ästhetischen Gründen, trinken wollen, selbst nicht nach gründlichster Bromirung.

Sehr wichtig ist ferner, dass bei der natürlichen Infection die Verhältnisse ganz anders liegen, wie Schüder sie bei seinen Versuchen hergestellt hat: Denn ein verdächtiges bromirtes Wasser wird eben ohne Weiteres von dem Durstigen in mehr oder minder grossen Mengen heruntergetrunken. Auch habe ich bereits in meinen ersten Versuchen gezeigt und jetzt wieder gefunden (Tabelle I, Nr. 6 u. 7), dass nach der Bromirung ohne sofortige Anreicherung niemals eine Cholerarothreaction eintritt, wenn man später, insbesondere nach 24 Stunden, eine zweite Aussaat in peptonisirtes Wasser vornimmt, die Choleravibrionen also in dem bromirten Wasser allein nicht bloss gehemmt, sondern thatsächlich abgestorben sind.

Ich stelle mir auch die Art der Infection so vor, dass nicht jedes Mal nothwendig ein einmaliger Trunk den Menschen krank macht, sondern dass hierzu vielmehr eine wiederholte oder längere Zeit dauernde Einführung cholera- und typhusbacillenhaltigen Wassers in der Regel erforderlich sein wird. Ferner aber findet die Ansteckung, wenn auch vielleicht am häufigsten, so doch nicht lediglich durch das Wasser selbst statt (Schüder berechnet sie in einer neueren, auf die Litteraturangaben der letzten 30 Jahre gestützten Arbeit auf 70·8 vom Hundert[1]), sondern sehr oft auch durch andere Nahrungs- und Genussmittel, die durch das Wasser oder sonstwie — gewiss sehr häufig durch Fliegen und andere Insecten, worauf namentlich auch Flügge schon ausdrücklich hingewiesen

---

[1] *Diese Zeitschrift.* 1901. Bd. XXXVIII.

hat —[1] inficirt wurden und die ihrerseits als ein vortrefflicher Nährboden für pathogene Keime gelten müssen. Hierzu gehört in erster Linie die roh genossene Milch (nach Schüder zu 17 vom Hundert), die entweder mit dem Wasser verdünnt war, oder sich in Gefässen befindet, die mit dem inficirten Wasser gespült und gereinigt worden sind. Hierher dürften ferner Brod, Butter, Käse, Früchte verschiedener Art, Salat, kurz alle jene Nahrungsstoffe zu rechnen sein, die ungekocht verzehrt werden.[2]

Was nun die von Schüder angewendeten Versuchsanordnungen selbst betrifft, so ist es ja ohne Weiteres klar, dass man bei Aussaat eines ganzen Liters, oder mehrerer Liter inficirten bromirten Wassers zur Gewinnung eines Beweises für das Ge- oder Misslingen der Desinfection, eher einzelne nicht abgetödtete, sondern nur abgeschwächte oder stark gehemmte Bacillen auffinden wird, als wenn man, dem bisherigen allgemeinen Koch'schen Brauche folgend, nur je einen oder einige Cubikcentimeter in den Nährboden überträgt. Ob man aber mit Schüder das zur Zeit noch ganz allgemein geltende, von allen Bakteriologen seit Koch bis zur heutigen Stunde geübte, und natürlich auch von Schumburg und mir angewandte Verfahren ohne Weiteres einen Versuchsfehler nennen darf, scheint mir doch etwas zweifelhaft.

Bei meinen Nachprüfungen nun, deren Zusammenstellung in zwei Tabellen am Schlusse folgt, habe ich bei Choleravibrionen allerdings auch ganz ähnliche Ergebnisse erhalten, wie sie Schüder beschreibt.

Auch ich fand, dass bei einzelnen Versuchsreihen nach der Bromirung in den angesetzten Kölbchen mitunter die grösste Zahl, ja fast alle, die Rothreaction gaben und dass, wenn dies bei der ersten Anreicherung nicht geschah, die Reaction doch noch nach der zweiten Uebertragung in weitere peptonisirte Kölbchen nach 24 Stunden bei einzelnen derselben auftrat (Tabelle I, Nr. 1, 2, 4, 5 u. 6.) Natürlich, da hierdurch eben den nahezu abgetödteten Vibrionen immer wieder frischer, von etwaigen hindernden Stoffwechselproducten freier Nährstoff zugeführt wurde, die Wachsthumsbedingungen also ganz aussergewöhnlich verbessert waren. Uebrigens war es höchst interessant, dass in derartig behandelten Kölbchen bei drei Versuchen (Nr. 3, 21 u. 22) nicht Choleravibrionen, sondern andere Bakterien gefunden wurden, denen die Rothreaction zugeschrieben werden musste. Wahrscheinlich hatte es sich um nachträgliche Verunreinigungen bei den verschiedenen Aussaaten u. s. w. gehandelt; oder (thermophile) Sporenbildner waren in den Wasserproben enthalten gewesen und hatten die Wirkung des Desinficiens überstanden. Sehr wichtig

[1] *Diese Zeitschrift.* 1893. Bd. XIV. S. 165.

[2] Siehe auch die eingehenden bezüglichen Ausführungen R. Koch's. *Ebenda.* 1893. Bd. XV.

ist hierbei, dass in den beiden letzten Versuchen zum Vergleich Chlorkalk- und Sublimatlösungen (je 1 ^{grm} auf 1 Liter mit Choleravibrionen inficirten Wassers) zur Verwendung gekommen waren, die also im letzteren Falle auch nicht zur Abtödtung der fraglichen Bacillensporen während einer fünf Minuten langen Einwirkung hingereicht hatten. Vielleicht ergeben weitere Prüfungen von anderer Seite Aehnliches. Jedenfalls muss durchaus verlangt werden, dass bei jeder erst nach der zweiten Anreicherung eintretenden Rothreaction durch die weitere mikroskopische Untersuchung ermittelt wird, ob man wirklich Choleravibrionen oder andere Bakterienarten vor sich hat. Dass Schüder dies gethan, geht aus seiner Arbeit nicht hervor. Er sagt nur (S. 312) „Selbstverständlich wurde von jedem zum Versuch benutzten Wasser (wann?) durch Controlkölbchen (wie viel?) festgestellt, dass in demselben keine Rothbildner vorhanden waren.“ Seinen Forderungen entsprechend müsste Schüder genau soviel Wasser zur Controle untersuchen, wie er zum eigentlichen Versuch verwendet![1]

Auch ist noch ein Punkt zu erwähnen. Setzt man nämlich zu einer Wasserprobe, die Indolbildner enthält, eine geringe Menge, etwa bis zu einem Cubikcentimeter einer durch Erhitzen oder Kochen abgetödteten Cholera-Peptonwassercultur hinzu, so tritt unter Umständen auf Zusatz von reiner Schwefelsäure, schwache, aber deutliche Rothreaction ein. Die in der Choleracultur enthaltenen Nitrite sind also bisweilen so reichlich, dass sie selbst nach Abtödtung der Vibrionen bei Gegenwart von Indol (durch andere verunreinigende Bakterien gebildet) in einem bromirten Wasser die Nitrosoindolreaction hervorrufen. Hierdurch kann sowohl bei der ersten, als auch selbst der zweiten Anreicherung in einem bromirten Wasser das Vorhandensein lebender Cholerabacillen vorgetäuscht werden, ein Umstand, der bei allen bezüglichen Prüfungen dringend der Beachtung bedarf.

Wenn man sich also auf Grund der Schüder'schen Versuche entschliessen sollte, von dem bisher geübten Desinfectionsverfahren abzugehen und stets die ganze inficirte Wassermenge oder doch, wie Schüder dies bei seinen Typhusversuchen that, und ich ebenfalls nachgemacht habe, mindestens 10 ^{ccm} Wasser jedes Mal auszusäen, so würden sämmtliche seit Robert Koch's Auftreten vorgenommene bezügliche Desinfectionsarbeiten zu wiederholen sein und als nicht beweiskräftig oder nicht einwandsfrei gelten müssen. Wird Schüder das zu erklären bereit sein?

[1] Warum Schüder übrigens, wie ich einer brieflichen Mittheilung entnehme, die Erlenmeyer'schen Kölbchen zur Anreicherung „gar nicht verschlossen“ hat, verstehe ich nicht recht. Luft dringt doch durch den Wattepfropf genug in die Kölbchen ein.

Untersucht man Cholera- oder Typhusaufschwemmungen (unfiltrirte und durch doppelte gewöhnliche Filter geschickte) im hängenden Tropfen, so findet man, wovon ich mich bei meinen letzten Nachprüfungen wieder überzeugt habe, ausnahmslos neben der Mehrzahl isolirter Bacillen einzelne grössere zusammenhängende Culturfetzen und mehr oder minder zahlreiche Bröckel des Nährbodens, die mitunter 50 bis 100 Mal grösser sind, als der einzelne Bacillenleib. In der Aufschwemmung war aber niemals ein solches Bröckchen mit blossem Auge sichtbar! Nur bei gehärtetem Filtermaterial erhält man eben fast völlig bröckelfreie Filtrate, wovon man sich ebenfalls leicht überzeugen kann. Auch sind die Bröckel und etwaige Fetzen der Cultur selbst jetzt durchschnittlich viel kleiner und viel weniger bacillenhaltig als bei gewöhnlichen Filtern, was als sehr wichtig bezeichnet werden muss.

Auf diese Weise also erklären sich auch zum grossen Theil Schüder's negative Ergebnisse bei den Versuchen mit seinen filtrirten Culturen und die Differenzen mit Schumburg und mir.

Uebrigens werden nach Koch selbst Milzbrandsporen durch Bromwasser im Verhältniss von 1:100 in 24 Stunden abgetödtet, und Milzbrandbacillen sogar schon durch eine Concentration von 1:1500.[1]

Was ferner die auf S. 320 beschriebene Versuchsanordnung Schüder's hinsichtlich der Anwendung des Bromverfahrens bei Aufschwemmungen von Typhusculturen betrifft, so ist die Annahme, dass die sorgfältige Sterilisirung der zu inficirenden Wasserarten genüge, um alle nach der Bromirung auf den Platten noch zur Entwickelung kommenden Colonieen ohne Weiteres als dem Typhus angehörig ansprechen zu können, auch nicht unbedingt richtig. Es ist mir bei verschiedenen Versuchen (wohlverstanden mit filtrirten Culturen) passirt, dass die Gelatineplatten nur ganz vereinzelte Luftkeime enthielten, während die zugehörigen Agarplatten mehr oder minder zahlreiche, oft die ganze Oberfläche überziehende Colonieen zeigten, von denen man aber stets den Ausgangspunkt sehen konnte, und die ebenfalls nicht von Typhusbacillen gebildet waren (Tabelle II, Nr. 2, 9 u. 16). Dies beruht darauf, dass bei den umgekehrt in den Brütschrank gestellten Petrischalen durch das Condenswasser bei der Untersuchung der Schalen unter dem Mikroskop, selbst ohne dass der Deckel abgenommen oder auch nur geöffnet worden war, eine Verunreinigung von aussen, und zwar meist vom Rande her, stattgefunden hatte. Auch ist es nicht ausgeschlossen, dass trotz der sorgfältigsten Sterilisirung, wie bereits oben bemerkt, doch noch Dauersporen, die ja bekanntlich mitunter Temperaturen von 100° Stunden lang aushalten, in dem Wasser

[1] M. Kirchner, *Grundriss der Militärgesundheitspflege.* S. 845.

vorhanden waren und auch dem Brom nicht erlagen, vielmehr erst am zweiten und dritten Tage doch noch in dem Agar zur Entwickelung kamen. Bei den Gelatineplatten ereignete sich dies, wie gesagt, niemals. Es ist deshalb unbedingt erforderlich, dass bei etwaigen anderweitigen Nachprüfungen stets neben den Agarplatten ausnahmslos auch Gelatine- oder Bouillon- bezw. Peptonwasseraussaaten vorgenommen werden, die gewissermaassen als Controle möglicher Verunreinigungen der Agarplatten zu dienen haben. (Trübung der Nährflüssigkeiten macht selbstverständlich ein weiteres Plattenverfahren u. s. w. erforderlich.)

Da bei meinen Untersuchungen in allen Gelatineplatten sichere Abtödtung der Typhusbacillen erfolgt war, so ist dies wohl ebenso für die Agarplatten anzunehmen, wenn auch durch die genannten Verunreinigungen oder Ueberwucherungen letzterer mehrmals eine völlige Sicherheit in dieser Beziehung nicht zu erreichen war.

Aus alledem geht hervor, dass die Schüder'schen Versuche und die aus ihnen gezogenen Schlussfolgerungen den Werth des Bromverfahrens in keiner Weise erschüttern. Es muss vielmehr erst bewiesen werden, wie in Wirklichkeit die Verhältnisse sich an inficirten fliessenden und stehenden Gewässern im Grossen gestalten und ob hier auch das Brom wirkungslos oder minderwerthig ist, ehe man es für die Praxis verwerfen kann. Wir glauben aber eben, mit den fast reinen, nach unseren Angaben filtrirten Agaraufschwemmungen, oder an sich schon bröckelfreien Bouillon- und Peptonwasserculturen der Wirklichkeit am nächsten gekommen zu sein und erwarten in Ruhe eine Widerlegung. Denn der Laboratoriumsversuch arbeitet stets mit völlig anderen Bedingungen und Grössen; und der wirkliche Infectionsmodus am Menschen ist doch, wie gesagt, auch noch keineswegs völlig aufgeklärt. Denn die betreffenden Litteraturangaben sind ja durchaus keine zwingenden Beweise, beruhen vielmehr zum grössten Theile auf mehr oder minder berechtigten Annahmen, ja oft nur auf blossen Vermuthungen, und sowohl die Cholera- als auch die Typhusbacillen sind bisher nur in ganz vereinzelten Fällen im Wasser bakteriologisch sicher festgestellt. Namentlich lege ich auf die ausländischen Angaben keinen allzu grossen Werth und möchte daher bis auf Weiteres an den durch das Wasser, oder auf andere Weise inficirten Nahrungsmitteln festhalten, die wohl eben so häufig eine Epidemie herbeiführen dürften, wie der unmittelbare Wassergenuss.

Schliesslich noch ein Wort über die Gebrauchsgegenstände und Chemikalien für die Desinfection der Firma Kade.

Ich habe meine Prüfung der Schüder'schen Versuche mit einer Untersuchung des Inhalts verschiedener Bromröhrchen für 1 und 5 Liter

Wasser begonnen und dabei leider ein wenig befriedigendes Ergebniss erhalten. Von 5 Röhrchen erster Art enthielten nämlich bei der chemischen Untersuchung nur 3 die erforderliche Brommenge, 2 dagegen weniger, und zwar das eine nur 0·0504, das andere gar bloss 0·0264 Brom. Von 4 Röhrchen für 5 Liter Wasser zeigte aber auch nicht ein einziges den richtigen Bromgehalt von 0·3 ^{ccm}. Bei dem einen wurde als höchster Gehalt 0.2768, bei einem anderen als niedrigster 0·2621 freies Brom festgestellt. Gewiss eine dringende Mahnung für die Firma, der Herstellung der Röhrchen die grösste Sorgfalt angedeihen zu lassen, wenn das Verfahren nicht ernstlich discreditirt werden soll.

Es darf aber ferner wohl als sicher gelten, dass sich hieraus ebenfalls ein gewisser Theil der Differenzen zwischen Schüder's und uns erklärt. Denn wenn sehr viele Röhrchen stets weniger, einzelne aber noch nicht einmal die Hälfte der nothwendigen Brommenge enthalten, wie kann man da eine auch nur einigermaassen sichere und übereinstimmende Desinfectionswirkung erwarten? Wir haben ausserdem in unseren Arbeiten von vornherein erklärt, bei sehr harten oder stark „sumpfigen" Wasserarten solle man stets reichlich mehr Brom anwenden als 0·06 auf den Liter. Denn es ist ohnehin schon, wie ich noch besonders bewiesen habe (S. 79), bei offenen Gefässen, die ja in der Praxis gewöhnlich in Frage kommen, immer auf einen gewissen Anfangsverlust des Broms zu rechnen, der nicht vorher bestimmt werden kann. Aber noch mehr!

Wenn man das Wasser in dem Kolben nach Zusatz des Broms, wie Schüder ausdrücklich verlangt, während des Versuchs kräftig umschüttelt, um eine gründliche Mischung des Broms mit allen Theilen des zum Versuch dienenden Wassers zu erreichen, so ergiebt sich, dass dieses innerhalb 5 Minuten stets deutlich an Brom verliert und letzteres sich in der Luftschicht über dem Wasser ansammelt. Hieran ändert auch ein gutschliessender Gummipfropfen nichts. So wurde z. B. in einem Versuch folgendes ermittelt:

Ein Röhrchen für 1 Liter Wasser ergab:

1. unmittelbar nach der Lösung im Wasser 0·0629 freies Brom;
2. nach dem Umschütteln nach 3 Minuten 0·0588 freies Broms;
3. nach 5 Minuten 0.0550.

Alsdann bleibt bis nach 30 Minuten der Bromgehalt constant. Das Brom war, um bei der Bestimmung jeden Verlust möglichst zu vermeiden, nicht lediglich aus dem durchgebrochenen Röhrchen ausgegossen, sondern dieses selbst sofort mit in das Wasser geworfen worden. Der Stöpsel des Kolbens schloss absolut sicher.

Bei längerer Einwirkung (10 bis 30 Minuten), so wie bei doppelten bis achtfachen Mengen des Broms habe ich niemals einen Miss-

Tabelle I.

Lfd. Nr.	Art des Wassers	Versuchsmenge in Liter	Zugesetzte Culturmenge	Brommenge pro Liter	Einwirkungsdauer in Minuten
1	Steriles dest. Wasser (Standgefäss)	1	24stündige Cholera-Peptonwassercultur	1 Röhrchen 0·06 (Kade)	5
2	Leitungswasser, nicht steril (Kochkolben)	1	Aufschwemmung einer Cholera-Agarcultur in steril. Wasser (nicht filtrirt)	0·06 "	5
3	"	1	" " mit doppeltem gewöhnl. Filter filtrirt	0·06 "	5
4	"	1	" " nicht filtrirt	0·06 "	5
5	" (Standgefäss)	1	" " durch gewöhnl. Filter filtr.	0·06 "	5
6	" (Kochkolben)	1	" "	0·06 "	5
7	"	1	" " filtrirt (gehärtetes Filter)	3proc. Bromwasser (2 ccm = 0·06)	5 (m. Ammoniak neutralisirt)
8	Leitungswasser, steril	1	Cholera-Bouilloncultur	" 0·06	5
9	"	1	Cholera-Peptonwassercultur	" 0·06	5
10	"	1	Agaraufschwemmung unfiltrirt	" 0·06	5
11	"	1	" " filtrirt (gehärtetes Filter)	" 0·06	5
12	Steriles destillirtes Wasser	1	steriler Stuhl + filtrirter Agaraufschwemmung (1 ccm)	" 0·06	5
13	"	1	" " (5 ccm)	" 0·06	5
14	Leitungswasser, steril	1	Agaraufschwemmung filtrirt (gehärtetes Filter)	" 0·06	15
15	"	1	" "	" 0·06	20
16	"	1	" "	" 0·06	30
17	Steriles destillirtes Wasser	1	Peptonwassercultur (24stündig)	" 0·18	5
18	"	1	Agaraufschwemmung filtrirt (gehärtetes Filter)	" 0·3	5
19	"	1	" "	" 0·48	5
20	Leitungswasser, nicht steril	1	" " unfiltrirt	1 grm Chlorkalk (32 procentig)	5 (mit Calciumbisulfit beseit.)
21	" steril	1	" filtrirt (gehärtetes Filter)	1 grm Chlorkalk (")	5 (")
22	" nicht steril	1	" unfiltrirt	1 grm Sublimat	5 (mit Schwefelammonium neutralisirt)

Choleraversuche.

Zahl der angesetzten Kölbchen	Zahl d. Rothreact. gebenden Kölbchen I Anreicher.	Zahl der angesetzten Kölbchen	Zahl d. Rothreact. gebenden Kölbchen II. Anreicher.	Summe I u. II	Bemerkungen
9	0	9	4	4	Controle: starke Rothreact. Bei der Filtration d. Agaraufschwemmungen wurden stets sterilisirte Trichter und Filter benutzt.
10	7	3	0	7	
10	0	10	3	3	Rothreaction schwach. Bei der weiteren Untersuchung keine Choleravibrionen, sondern ein dicker, schwach bewegl. Bacillus mit Fädenbildung. Sporen.
10	7	3	1	8	
10	1	9	6	7	
10 (5 ohne Pepton 5 mit Pepton)	o. P. = 0 m. P. = 0	o. P. = 5 m. P. = 5	o. P. = 0 m. P. = 4	0 4	
6 (3 ohne Pepton 3 mit Pepton)	o. P. = 0 m. P. = 0	o. P. = 3 m. P. = 3	o. P. = 0 m. P. = 0	0 0	
12	0	12	0	0	
12	0	12	0	0	
12	0	12	0	0	
12	0	12	0	0	
12	0	12	0	0	Von Nr. 4 bis 20: Controle: starke Rothreaction.
12	0	12	0	0	
12	0	12	0	0	
12	0	12	0	0	
12	0	12	0	0	
12	0	12	0	0	
12	0	12	0	0	
12	0	12	0	0	
6	0	6	0	0	
12	0	12	12	12	Schwache Rothreaction. Keine Choleravibrion. Ein grösserer u. ein kleinerer bewegl. Bac., bde. sporenbild.
12	0	12	12	12	Schwache Rothreaction. Keine Choleravibrion., sondern ein dicker, bewegl., sporenbildender Bacillus.

Tabelle II.

Lfd. Nr.	Art des Wassers	Versuchs-menge in Liter	Zugesetzte Culturmenge	Brommenge pro Liter	Einwirkungs-dauer in Minuten
1	Steriles Leitungs-wasser	1	24 stündige Typhus-Agar-aufschwemmung unfiltrirt	1 Röhrchen 0·06 (Kade)	5
2	„	1	„ filtrirt (gewöhnliches Filter)	0·06 „	5
3	„	1	Typhusbouilloncultur	3 proc. Bromwasser (2^{ccm} = 0·06)	5
4	„	1	Typhus-Agaraufschw. filtrirt (gehärtetes Filter)	„ 0·06	5
5	„	1	„ „	„ 0·06	5
6	„	1	„ „ nicht filtrirt	„ 0·06	5
7	Steriles destillirtes Wasser	1	„ „ filtrirt (gehärtetes Filter)	„ 0·06	5
8	„	1	„ „	„ 0·06	5
9	„	2	„ „	„ 0·06	5
10	„	2	„ „	„ 0·06	5
11	„	2	steriler Stuhl + filtrirter Typhusaufschw. (2^{ccm})	„ 0·06	5
12	„	2	„ (10^{ccm}) „	„ 0·06	5
13	„	1	„ (1^{ccm}) „	„ 0·06	5
14	Steriles Leitungswasser	1	Typhus-Agaraufschwemmung, filtrirt	„ 0·06	10
15	„	1	„ „	„ 0·06	30
16	„	1	„ „ filtrirt (gewöhnliches Filter)	2 Röhrchen 0·12 (Kade)	5
17	Steriles dest. Wasser	1	„ „ unfiltrirt	3 proc. Bromwasser 0·12	5
18	„	1	Bouilloncultur	„ 0·12	5
19	Steriles Leitungs-wasser	1	Typhus-Agaraufschwemmung filtrirt	„ 0·3	5
20	„	1	„ „ nicht filtrirt	„ 0·3	5
21	„	1	„ „ filtrirt (gewöhnliches Filter)	1^{grm} Sublimat	5 (mit Schwefelammonium neutralisirt)
22	Steriles destillirtes Wasser	1	steriler Stuhl + filtrirter Agaraufschwemmung gehärtetes Filter (5^{ccm})	1^{grm} Chlorkalk (28 procentig)	5 (mit Calciumbisulfit neutralisirt, 10^{ccm})

k. T. = keine Typhusbacillen. übw. = überwuchert

phusversuche.

Keimgehalt der Platten		Bemerkungen
Gelatine	Agar	
5 (k. T.)	übw. (T. ?)	Controle I (vom Wasser) steril, „ (II „ „ nach Typhuszusatz) unzählige Keime.
7 (k. T.)	theilweise übw. (k. T.)	Controlen wie oben. Trichter und Filter stets sterilisirt.
0	18 (k. T.)	Controlen wie oben.
0	23 (k. T.)	desgl.
3 (k. T.)	42 (k. T.)	desgl.
0	theilweise übw. (T. ?)	Von der Gelatineplatte mehrere Stückchen in Bouillonröhrchen. Im Brütschrank bei 37° nichts gewachsen!
0	4 (k. T.)	desgl.
2 (k. T.)	2 (k. T.)	desgl.
12 (k. T.)	übw. (Heubacillus) (k. T.)	Controlen wie oben.
11 (k. T.)	2 (k. T.)	desgl.
1 (k. T.)	20 (k. T.)	desgl.
0	3 (k. T.)	desgl.
2 (k. T.)	11 (k. T.)	desgl.
0	1 (k. T.)	desgl.
0	6 (k. T.)	desgl.
4 (k. T.)	übw. (k. T.)	desgl.
0	theilweise übw. (T. ?)	desgl.
0	„ (k. T.)	desgl.
0	1 (Schimmelpilz) (k. T.)	Von der Gelatineplatte Stückchen in Bouillon. Im Brütschrank nichts gewachsen!
0	12 (k. T.)	Controlen wie oben.
3 (k. T.)	übw. (k. T.)	desgl.
0	23 (k. T.)	desgl.

(Luftkeime, thermophile Bakterien u. s. w.).

erfolg zu verzeichnen gehabt. Alle nach uns filtrirten Cholera- und Typhusaufschwemmungen, sowie Bouillon- und Peptonwasserculturen beider Arten von Keimen wurden stets mit völliger Sicherheit vernichtet (Tabelle I, Nr. 14 bis 19, Tabelle II, Nr. 14 bis 16. 18 und 19). Ja, auch die mit dünnen Stuhlgängen, die einen Zusatz von filtrirten Culturaufschwemmungen erhalten hatten, beschickten Wasserproben waren selbst schon durch 0·06 Brom auf den Liter in 5 Minuten entkeimt; also unter Verhältnissen, wie sie für die Brunnen- und Oberflächenwasserinfection ganz allgemein als zutreffend oder gültig angenommen werden (Tabelle I, Nr. 12 u. 13, Tabelle II, Nr. 11, 12, 13).

Ich habe auch gelegentlich einer Versuchsreihe zu anderen Zwecken als den vorliegenden, die keimtödtende Kraft des Broms an grösseren Wassermengen (200 Liter) geprüft und hierbei gefunden, dass mit Typhus-Bouillonculturen und filtrirten Agaraufschwemmungen inficirte Stuhlgänge durch 0·06 Brom auf den Liter Wasser in wenigen Minuten hier ebenso sicher sterilisirt wurden, wie der einzelne Liter. Die Aussaaten (theils je 1, theils je 10 ccm) erfolgten, was besonders zu betonen ist, in drei verschiedene Arten von Nährböden, nämlich in Gelatine, Agar und Bouillon, von denen letztere bei 37° gehalten wurden. Nach 8tägiger Beobachtung kam niemals ein Typhusbacillus zur Entwickelung, vielmehr nur einzelne Sporenbildner, zumeist in die Gruppe des Heubacillus gehörig. Ja, bei 16 Versuchen blieb sogar in 7 Bouillonröhrchen jegliches Wachsthum aus, die Sterilisirung war also in fast 44 Procent eine vollkommene.

Bei allen diesen zuletzt erwähnten Versuchen wurde allerdings ausschliesslich das Bromwasser, nicht die zugeschmolzenen Röhrchen, benutzt, um jedes Mal eine genaue Dosirung zu ermöglichen, und das Brom nach beendigter Einwirkung mit Ammoniak beseitigt.

Das in einer Flasche mit Brom enthaltene Wasser stellt, wie zuvor ermittelt worden war, eine 3procentige Bromlösung dar, und man bedarf also nur 2 ccm hiervon, um auf 1 Liter Wasser 0·06 freies Brom zu erhalten, zu dessen Bindung 5 bis 10 Tropfen 10procentigen Ammoniakwassers genügen. Dieser Bromgehalt ist bei gut schliessendem Glasstöpsel ein völlig constanter und wird jedenfalls nach Benutzung der Flasche mit dem Aufsetzen des Stöpsels immer alsbald wieder erreicht. Wie hiernach die ungünstigen Ergebnisse Schüder's, auch bei seinen filtrirten Culturaufschwemmungen selbst mit der mehrfachen Menge des Broms zu erklären sind, entzieht sich meinem Verständniss. Man müsste denn eben wieder auf die gröberen Agarbröckel zurückgreifen, die durch seine Filter durchgegangen sind oder andere, möglicher Weise symbiotisch wirkende Rothbildner, die nicht abgetödtet wurden, wie in meinen oben erwähnten Fällen, für die bezüglichen Misserfolge des Autors verantwortlich machen.

Aus meinen Nachprüfungen geht also zusammengefasst Folgendes hervor:

1. Das Schumburg'sche Verfahren der Wasserreinigung mit Brom versagt den Cholera- und Typhusbakterien gegenüber niemals, wenn diese ohne grobe Bröckel, d. h. nach Filtration der Culturaufschwemmungen von festen Nährböden durch gehärtete Filter oder in „flüssigen" Culturen, der Einwirkung des Mittels ausgesetzt sind.

Derartige Verhältnisse liegen aber in der Praxis doch nur „unter besonders erschwerten Umständen" nicht vor. Dass es allerdings besser wäre, wenn das Brom überhaupt eine grössere Tiefenwirkung äusserte, ist selbstverständlich.

2. Schüder musste — abgesehen von dem ungleichmässigen Bromgehalt der Röhrchen — zu abweichenden Ergebnissen kommen, weil er sich theils unfiltrirter, theils nur durch gewöhnliches Fliesspapier filtrirter Aufschwemmungen der genannten Bakterienarten bedient hatte.

3. Die Rothreaction kann für sich allein nicht als ein sicheres Mittel angesehen werden, um eine einwandsfreie Entscheidung über das Vorhandensein von lebenden Choleravibrionen abzugeben. Denn selbst durch die bei den Versuchen nie ganz zu vermeidenden Verunreinigungen können Rothbildner nachträglich in die Culturflüssigkeiten gelangen. Auch an thermophile Dauerformen ist zu denken. Deshalb ist ein gleichzeitiges Plattenverfahren auch hierbei unerlässlich.

4. Die für die Prüfung der keimtödtenden Kraft eines Desinfectionsmittels von Schüder vorgeschlagene Aussaat grösserer als der bisher üblichen Mengen, oder des ganzen behandelten Materials, verdient zwar der Beachtung, wird aber kaum jemals als Grundsatz für die allgemeine Praxis gelten können.

[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten in Berlin.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. R. Koch.)

Entgegnung

auf die Schumburg'sche Arbeit: „Das Wasserreinigungsverfahren mit Brom" und die Arbeit von A. Pfuhl: „Zu den Schüder'schen Prüfungsversuchen des Bromverfahrens nach Schumburg".

Von

Stabsarzt Dr. **Schüder**.

I.

Was zunächst die Ausführungen Schumburg's anlangt, so habe ich darauf Folgendes zu entgegnen:

1. Schumburg vertheidigt seine Methode „zum Nachweis der nach einem Desinfectionsversuch lebend gebliebenen Keime von einem Liter nur bis zu 3 ccm zu benützen" gegenüber meiner Forderung, „möglichst die ganze zum Versuch verwandte Menge hierfür zu benützen", damit, dass er sagt, diese Methode sei seit 1881 die übliche gewesen, und in Millionen von Versuchen angewandt; wenn von einem Liter Wasser 3 ccm steril gewesen seien, sei es der ganze Liter auch gewesen.

Wenn es nun eine Methode giebt, welche erlaubt, einen ganzen Liter (oder mehrere) auf noch entwickelungsfähige Keime zu untersuchen, anstatt nur immer 3 ccm, wird man da das Letztere, anstatt des gewissermassen 333 Mal so leistungsfähigen Verfahrens wählen, nur deshalb, weil es seit 20 Jahren so gemacht ist? Wollen wir wissenschaftlich in dieser Beziehung auf dem Standpunkt von 1881 stehen bleiben, falls sich Besseres bieten sollte?

Schumburg glaubt, mein Verfahren sei nur für Choleravibrionen durchzuführen und hier auch nur innerhalb eines bescheidenen Rahmens, denn z. B. 200 Liter Badewasser zu Peptonnährböden zwecks Untersuchung auf Choleravibrionen zu verarbeiten, würde auch die Mittel der bestdotirten

Institute übersteigen. Nun, wenn auf diese Weise eine dringliche, für die Praxis wichtige Frage gelöst werden könnte, würden die erforderlichen 2 kg Pepton wohl auch noch von einem minder gut dotirten Institute beschafft werden können, und ausserdem würde in solchem Falle die Untersuchung von etwa 5 bis 10 Litern schon andere Aufschlüsse geben als die von 3 ccm.

2. Schumburg meint ferner, dass beim Arbeiten mit Typhus meinem Verlangen, da hier ja natürlich das Wasser nur zu Platten verarbeitet werden könne, erst recht enge Grenzen gezogen seien, und dass hier wie für alle anderen Bakterienspecies die Einsaat von einigen Cubikcentimetern in Agar und Gelatine Geltung behalten müsse. Das ist aber durchaus nicht der Fall und gerade die directe Einsaat in Platten ist zu vermeiden. In einer neueren Arbeit[1] habe ich das Verfahren beschrieben, wie man Wasser in Mengen von einem bis mehreren Litern, in welches Typhus- oder irgend welche anderen Bakterien eingesäet sind, bis auf jeden einzelnen nach einem Desinfectionsversuch noch entwickelungsfähig gebliebenen Keim durchsuchen kann, ohne die ganze Wassermenge zu Platten zu verarbeiten. Ich hätte dies Verfahren (wie S. 313[2] angedeutet) bei der Nachprüfung des Bromverfahrens mit Typhusbakterien auch schon angewandt, wenn ich hier nicht mit Platten von 10 ccm (und eventuell auch mit einigen solchen) schon an's Ziel gekommen wäre, denn das Verfahren ist immerhin etwas umständlicher als das Anlegen einer oder weniger Platten mit 10 ccm.

3. Schumburg wendet sich ferner gegen meinen Vorwurf, er habe durch Filtration der Culturaufschwemmungen Verhältnisse geschaffen, die der Wirklichkeit nicht entsprächen. Er will gerade durch Entfernung der Bröckelchen der Wirklichkeit nahe kommen, weil bisher Niemand Bröckel aus Zoogloeen bestehend im Wasser gesehen hat. Ist das ein stricter Beweis gegen ihr Vorkommen? Wodurch wird bewiesen, dass die pathogenen Keime unter natürlichen Verhältnissen stets nur als freie Bakterien oder in Verbänden von 6 bis 8 bis 10 Exemplaren, wie sie durch Papierfilter hindurchgehen sollen, im Wasser vorhanden sind? Wie aber dem auch sei, warum ignorirt Schumburg vollständig, dass auch ich ebenso wie er und A. Pfuhl eine ganze Reihe von Versuchen (16) mit Bakterienaufschwemmungen, welche durch doppelte Filter aus Filtrirpapier gegangen waren, angestellt habe, bei denen

[1] Ueber das Hünermann'sche Verfahren der Wasserdesinfection nebst Bemerkungen über die bei der Prüfung derartiger Desinfectionsmittel anzuwendenden Untersuchungsmethoden. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXIX. S. 379 ff.

[2] *Ebenda.* Bd. XXXVII.

in den meisten Fällen das Bromverfahren genau so versagte wie mit den nicht filtrirten Culturen?

4. Wenn Schumburg zugeben muss, dass die Dosirung des Broms für je 1 und 5 Liter Wasser ungenau, und erst den für 100 Liter berechneten Brommengen eine genaue Dosirung eigen ist, so schränkt er damit die praktische Brauchbarkeit seines Verfahrens selbst ein. Wo ist immer ein Gefäss, in welchem 100 Liter bromirt werden können? Es werden in der Praxis doch häufig auch kleinere Mengen sterilen Trinkwassers verlangt.

5. Schumburg behauptet, dass bei der Nachprüfung seines Verfahrens im Jahre 1897 alle Untersucher, auch die im hiesigen Institute, sich über die baktericide Kraft des Broms in der Verdünnung 0·06 : 1000 gegenüber Cholera- und Typhusbakterien einig waren, ausser mir; unter Tausenden von Versuchen mit verschiedenster Versuchsanordnung seien nur meine negativ ausgefallen.

Hier befindet sich Schumburg in einem ganz gewaltigen Irrthume. Die im hiesigen Institute von mehreren Untersuchern ausgeführten Untersuchungen sind, wie mir Prof. Proskauer mittheilt, nichts weniger als zufriedenstellend in Bezug auf die baktericide Wirkung des Bromverfahrens ausgefallen, und mehrere andere Untersucher haben mir bei persönlicher Aussprache Urtheile über die baktericide Wirkung des Schumburg'schen Verfahrens abgegeben, welche theils wenig zufriedenstellend, theils sogar recht absprechend lauteten. Vielleicht fühlt sich Einer oder der Andere beim Lesen dieser Zeilen dazu bewogen, über seine Erfahrungen in dieser Hinsicht öffentlich zu berichten. Ausser den Arbeiten A. Pfuhl's ist mir nämlich keine Veröffentlichung aus der Litteratur bekannt, welche die Schumburg'schen Angaben über sein Verfahren bestätigte.

Beziehen sich nun meine letzten Bemerkungen nur auf Laboratoriumsversuche, so liegt über die Brauchbarkeit des Schumburg'schen Bromverfahrens für praktische Zwecke, und zwar speciell für militärische im Felde, für die das Verfahren doch mit in erster Linie bestimmt sein soll, bereits eine Veröffentlichung vor. Bei der Wasserversorgung des deutschen Expeditionscorps in China hat sich das Schumburg'sche Verfahren so unbrauchbar erwiesen, wie Morgenroth und Weigt[1] berichten, dass man auf die wesentlich günstigere Resultate liefernden Berkefeld-Filter und das Abkochen des Wassers zurückging, trotz der diesen beiden Maassnahmen entgegenstehenden, theilweise recht erheblichen Schwierigkeiten. Das Schumburg'sche Verfahren brachte den 1500 Keime

[1] Bericht über die Wasserversorgung in und um Tientsin. *Hygienische Rundschau.* 1901. Nr. 16. S. 773 ff.

in 1 ccm betragenden Keimgehalt des Wassers des Peito trotz genauer Wahrung der Schumburg'schen Vorschriften nur auf 150 Keime in 1 ccm herunter und so kam man „nach den bisher gemachten Erfahrungen" zu der Ansicht, „dass es unter den dort vorliegenden Verhältnissen und mit besonderer Berücksichtigung des dort häufigen Vorkommens von Ruhr (!) sich nicht empfehle, bei unseren Truppen einen ausgiebigeren Gebrauch von dem Schumburg'schen Verfahren zu machen."

II.

Ich wende mich nun zu den Ausführungen A. Pfuhl's, beschränke mich aber nur auf die Hauptsachen.

1. A. Pfuhl bestätigt zunächst im Grossen und Ganzen vollauf meine Resultate, also auch die Unzuverlässigkeit des Bromverfahrens gegenüber Culturaufschwemmungen, welche doppelte Filter von Filtrirpapier passirt hatten! Sodann spricht er die Behauptung aus, dass das Schumburg'sche Verfahren nur dann functioniren könne, wenn die dem Wasser zugesetzten Bakterienaufschwemmungen „gehärtete Filter" passirt hätten, welche auch viel dichter seien, als die doppelten aus Filtrirpapier. Pfuhl nennt dies „Befreien von gröberen Bröckeln des Nährbodens und grösseren Culturfetzen". Ich benutzte bei meinen Versuchen Filter, welche in einzelner Lage schon so feine Niederschläge wie von Calciumoxalat und Bariumsulfat nicht mehr passiren lassen.

2. A. Pfuhl behauptet nun weiter, dass erst solche Bakterienaufschwemmungen, welche gehärtete Filter passirt hätten, dem natürlichen Vorkommen von pathogenen Keimen im Wasser, also in Wässern, welche in erster Linie durch Darmausleerungen Cholera-, Typhus- und Ruhrkranker inficirt wurden, entsprechen. Ich muss es allen Sachverständigen überlassen, sich hierüber ein eigenes Urtheil zu bilden! — Pfuhl bezeichnet allerdings auch die Abgänge der Typhuskranken, mit Ausnahme der abortiven Fälle, meist als „nahezu wässerige" Massen, wofür er wohl die „erbssuppenähnlichen" Stühle der Typhuskranken anzusehen verlangt. Meint Pfuhl denn, dass die Darmentleerungen eines Typhuskranken, nur so bald oder so lange sie „nahezu wässerig" sind, Typhusbacillen enthalten?

So lange aber für die Vorstellungen Pfuhl's über natürlich inficirtes Wasser keine stricten Beweise vorliegen, wird der praktische Hygieniker den ungünstigeren und viel wahrscheinlicheren Fall annehmen und darnach handeln! Darin, glaube ich, habe ich die maassgebenden Meinungen wohl vollzählig auf meiner Seite.

3. Ob die im Wasser unter natürlichen Verhältnissen vorkommenden pathogenen Keime eine so „sehr geringe Lebensfähigkeit“, wie sich Pfuhl vorstellt, besitzen, ist doch wohl auf Grund der recht häufig und oft massenhaft vorkommenden Infectionen des Menschen (Gelsenkirchen!) zu bezweifeln, jedenfalls aber durch nichts bewiesen.

4. Auf Pfuhl's theoretische Erörterungen über das Zustandekommen der natürlichen Infection des Menschen, dass nämlich hierzu eine „wiederholte oder längere Zeit dauernde Einführung cholera- oder typhusbacillenhaltigen Wassers“ in der Regel nothwendig sein wird, will ich nicht näher eingehen. Würde Pfuhl auch nur einmal seinen Durst mit Wasser stillen, welches nachweislich lebende Cholera- oder Typhusbakterien enthält, oder die Verantwortung übernehmen, dass Andere dies unbeschadet thun können?

5. Pfuhl macht gegen meine Untersuchungsmethoden allerlei Einwürfe, unter Anderem, dass möglicher Weise die Uebertragung von geringen Mengen abgetödteter Choleracultur bei Anstellung der Rothreaction durch „schwache“ Rothfärbung das Vorhandensein lebender Vibrionen vorgetäuscht sein könnte. Ich habe stets nur eine ausgesprochen burgunderrothähnliche Färbung bei allen meinen Versuchen als positiv angesehen. Pfuhl will ferner beobachtet haben, dass in einzelnen (drei) Fällen bei der zweiten Uebertragung in Peptonwasser zufällige Verunreinigungen durch andere Bakterien oder Sporen stattgefunden hätten, denen die später aufgetretene „schwache“ Rothreaction zuzuschreiben sei. Ist das sicher? Sind diese Bakterien reingezüchtet und als Rothbildner festgestellt? Dass beim Arbeiten mit Typhus in sterilisirtem Wasser mit nachfolgendem Plattenverfahren es zuweilen auch mir vorgekommen ist, dass sich Colonieen von Sporen und Luftkeimen ausgehend oder vom Rande her wachsende Bakterienrasen auf den Platten fanden, ist so selbstverständlich und nebensächlich, dass ich es gar nicht erwähnt habe, zumal ich solche Versuche überhaupt ausschaltete. Im Uebrigen kam das bei der sorgfältigen Sterilisation des Wassers (3 Tage mindestens 1, oft bis 3 Stunden) höchst selten vor. Auch die von Pfuhl hier geforderten Gelatineplatten habe ich, wie besonders erwähnt, in einer Anzahl von Versuchen angelegt.

6. Pfuhl will ferner einen Theil der Differenzen zwischen seinen, Schumburg's und meinen Resultaten damit erklären, dass bei seiner jetzigen Nachprüfung die von der Firma Kade gelieferten Bromröhrchen für 1 und 5 Liter Wasser ungenügend dosirt waren. Wie sind aber dann meine ungünstigen Resultate mit dem mehrfachen (bis achtfachen) für 1 Liter berechneten Bromquantum zu erklären?

III.

In meiner Arbeit: „Ueber das Schumburg'sche Verfahren der Wasserreinigung mittels Brom"[1] habe ich mir die Differenzen in unseren Resultaten theils durch die verschieden grossen Mengen des benutzten Untersuchungsmaterials, theils durch die Verwendung filtrirter und unfiltrirter Culturaufschwemmungen zu erklären versucht. Es kommt nun aber, wie ich bei den in meiner letzten Arbeit[2] niedergelegten Untersuchungen[3] gefunden habe, noch ein drittes, sehr wichtiges Moment hinzu: nämlich das, dass die Anwendung des Plattenverfahrens für den Nachweis der nach Anwendung eines Desinfectionsmittels noch entwickelungsfähig gebliebenen Keime ganz unzureichend ist. So habe ich wiederholt von einem mit **einer ganzen Choleracultur** inficirten Liter sterilen Wassers nach Anwendung des Hünermann'schen Desinfectionsverfahrens 40 ^{ccm} zu Agarplatten verarbeitet (also $^1/_{25}$ Cultur) und bei 37° gehalten und nicht eine einzige Choleracolonie kam zum Wachsthum, dagegen ergaben die übrigen 960 ^{ccm} in kleinen Kölbchen angereichert in der Mehrzahl und in einem Falle sogar alle eine ausgesprochene Rothreaction von tief rother Farbe. Ganz analoge Resultate gaben die entsprechenden Versuche mit Typhus. **Aus diesem Grunde kann ich das Sterilbleiben der Agar- und Gelatineplatten in der II. die Versuche mit Typhusbacillen enthaltenden Tabelle der letzten A. Pfuhl'schen Arbeit auf keinen Fall beweisend dafür ansehen, dass in dem nach Schumburg behandelten inficirten Wasser lebensfähige Keime nicht mehr vorhanden waren.** Meine Versuche widerlegen zugleich auch schlagend die Behauptung Schumburg's, dass bei solchen Untersuchungen „mit Typhus- und allen anderen Bakterienspecies die Einsaat von einigen Cubikcentimetern in Agar oder Gelatine Geltung behalten müsse".

Ich habe nun, obgleich es mir nach meinen bisherigen Erfahrungen überflüssig erscheinen konnte, noch eine Anzahl Versuche mit Bakterien aus flüssigem (Bouillon-) Nährboden und aus Culturaufschwemmungen, welche der Forderung Pfuhl's entsprechend gehärtete Filter passirt hatten, gemacht. Aus Zeitersparniss habe ich nur mit den für unsere praktischen Bedürfnisse in erster Linie in Betracht kommenden Typhusbacillen gearbeitet. Es wurden je 5 Portionen sterilisirten Leitungswassers

---

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXVII. S. 307.

[2] *Ebenda.* Bd. XXXIX. S. 379 ff.

[3] Diese Untersuchungen sind Schumburg und A. Pfuhl zwar noch nicht bekannt gewesen, aber ich hatte Pfuhl, als er mir die Absicht, meine Untersuchungen über das Bromverfahren nachzuprüfen, mittheilte, brieflich gebeten, damit zu warten bis ich die Resultate neuerer, diesbezüglicher Untersuchungen veröffentlicht hätte.

à 1 Liter mit Typhusbakterien eben erwähnter Herkunft inficirt, dann jedem Liter der Inhalt von zwei für die Desinfection eines Liters berechneten Kade'schen Bromröhrchen — um auf keinen Fall unter 0·06:1000 Brom zu haben — hinzugefügt. Nach 5 Minuten währender Einwirkung wurde das Brom in vorschriftsmässiger Weise entfernt und eine sterilisirte concentrirte Pepton-Kochsalzlösung hinzugefügt. Nach 20 Stunden bei 37° wurden jedem Literkolben 3 Tropfen entnommen und auf dem von v. Drigalski und Conradi angegebenen Nährboden[1] zu Platten ausgestrichen und zwar ausser der Originalplatte noch je zwei Verdünnungen. Nach 20 Stunden bei 37° waren sämmtliche 30 Platten von völlig gleich aussehenden Colonieen derartig übersät, dass nur auf der zweiten Verdünnung eine Zählung möglich war; dieselbe ergab z. B. in einem Falle 18972 Colonieen!! — Wie die Agglutinationsprobe bei einer Anzahl Colonieen ergab, waren es lauter Typhuscolonieen! Diese Resultate bedürfen wohl keiner weiteren Erläuterung!

Kurz zusammengefasst antworte ich also Schumburg und Pfuhl:

1. Dass es mit 0·06 pro mille freien Broms **nicht** gelingt, Cholera- und Typhusbacillen im Wasser sicher abzutödten[2], selbst wenn diese nach Filtration der Culturaufschwemmungen durch gehärtete Filter oder aus flüssigen Nährböden stammend der Einwirkung des Broms ausgesetzt sind.

2. Meine sämmtlichen Vorschläge[3] für die Prüfung von Desinfectionsmitteln halte ich voll aufrecht. Um zu erfahren, was ein Desinfectionsmittel **wirklich werth ist,** ist die leistungsfähigste Methode die beste, und es liegt kein Grund vor, zu Gunsten einer noch so alten und viel gebrauchten Methode eine bessere deshalb zu verdammen, eben nur weil sie neu ist.

---

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXIX. S. 291 ff.

[2] Der weiteren Behauptung Schumburg's, „dass es gelingt, auf einfache Weise das Brom wieder aus dem Wasser herauszuschaffen und so ein durchaus schmackhaftes Trinkwasser zu erzeugen, und dass es schliesslich gelungen sei, das Verfahren in eine für praktische Verhältnisse geeignete Form zu bringen", kann ich gleichfalls nicht beipflichten. Die Lösung der für die Entfernung des Broms bestimmten Tabletten geht, wenn man nicht kochendes Wasser nimmt, nur verhältnissmässig langsam vor sich, das Wasser behält nach Entfernung des Broms nach meinen vielen Beobachtungen, auch wenn es in offenen Gefässen steht, häufig noch länger einen wahrnehmbaren unangenehmen Geruch und der Verzicht Schumburg's auf die Dosirung der Bromlösungen für kleinere Mengen Wassers (1 und 5 Liter und wahrscheinlich noch mehr, denn er lässt für 100 Liter dosiren) spricht auch gerade nicht dafür, dass das Verfahren eine geeignete Form für praktische Verhältnisse besitzt. Dies Alles ist aber doch nur nebensächlich gegenüber der ungenügenden baktericiden Kraft der Bromlösung!

[3] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXVII. S. 307—322. — Bd. XXXIX. S. 379.

3. Ob man ein Desinfectionsmittel, welchem insofern Mängel anhaften, als es nicht „absolut keimvernichtend“ wirkt, für gewisse praktische Zwecke etwa doch verwenden soll, weil man eben nichts Besseres hat, das ist natürlich eine ganz andere, von Fall zu Fall zu entscheidende Frage. Von einem für die Desinfection von Trinkwasser bestimmten Mittel ist aber, wenn es auch theoretisch vielleicht nicht ganz gleichgültig erscheinen mag, wieviel pathogene Keime ein Mensch in sich aufnimmt, unbedingt zu verlangen, dass es unter allen Umständen sämmtliche[1] pathogene Keime vernichtet und dies umsomehr, als wir in der Anwendung höherer Temperaturen ein Mittel besitzen, welches dies leistet. Diese Forderung ist vom Hygieniker so lange, bis die Frage, wieviel Keime zur Infection eines Menschen unbedingt nöthig sind, definitiv beantwortet ist, und d. h. wohl für alle Zeiten, aufrecht zu erhalten.

Ich schliesse mit demselben Wunsche wie Schumburg, dass nämlich möglichst viele berufene Untersucher der Nachprüfung meiner Ansicht über die Prüfung von Desinfectionsmitteln näher treten möchten, aber auch den Schumburg'schen Angaben über die baktericide Kraft seines Bromdesinfectionsverfahrens. Ein Anfang in ersterer Hinsicht ist bereits gemacht. Ballner[2] hat die Resultate seiner Untersuchungen über die keimvernichtende Kraft des Chlors und Broms (nach Lode und Schumburg) cassirt und will seine Untersuchungen nach meiner Methode, welche er unumwunden anerkennt, wiederholen. Ferner hat Rabs[3] bei der Prüfung des Hünermann'schen Wasserdesinfectionsverfahrens die günstigen Resultate Hünermann's nur so lange bestätigen können, als er nach bisher üblichen Methoden arbeitete; sobald er meine Methode anwandte, wurden die Resultate sofort andere!

[1] Schumburg hat selbst an anderer Stelle (Ueber die Desinfection des Harns bei Typhusbacteriurie durch Urotropin. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1901. S. 135) gesagt: „Die Entwickelungshemmung ist nur eine halbe That. Die Erfahrung, namentlich auf dem Gebiete der Epidemiologie und Desinfection, lehrt tausendfach, dass eine halbe prophylaktische Maassregel, die Laien und selbst Aerzte für eine ganze erachten, mehr Unheil stiftet, als wenn gar keine Vorbeugungsmaassnahmen getroffen wären.“ Soll dies schon für die Desinfection von Harn Typhuskranker Geltung haben, wieviel mehr dann muss es für Trinkwasser der Fall sein!

[2] *Wiener med. Wochenschrift.* 1901. Nr. 31—33.

[3] *Hygienische Rundschau.* 1901. Nr. 22. S. 1085.

Berichtigungen

zu der Abhandlung des Herrn Professor V. Babes, S. 217 ff. dieses Bandes.

S. 227 Zeile 1 v. o. lies: dass, behauptet Nocard, Thiere u. s. w.
Zeile 4 u. 5 v. o. lies: Da wurde eben nicht genügend gesucht, u. s. w.
Zeile 20 v. o. lies: thierische Parasiten werden u. s. w.

S. 231 Zeile 2 u. 3 v. o. lies: Unter 66 rotzigen Pferden hatten 6 Fieber und reagirten nicht oder undeutlich, 41 zeigten eine mittlere u. s. w.
Zeile 14 v. o.: Der Satz „Die Fälle u. s. w. bis Interesse" fällt weg.
Zeile 18 v. o. lies: Die Culturversuche waren in diesem und in den folgenden 6 Fällen positiv.
Zeile 8 v. o. lies: den Mangel der Reaction bei etwa 10 Proc.

S. 239 Zeile 11 v. u. lies: rotz und Bacillen constatirt werden konnte.

S. 242 Fussnote lies: 1894.

S 249 Zeile 13 v. o. lies: führt, welche die Gefässwand u. s. w.

S. 258 Zeile 17 v. o. lies: zu zeigen, sondern bloss irgend u. s. w.

S. 260 Zeile 11 v. u. lies: dass diese Knötchen anfangs.

S. 261 Zeile 1 v. o. lies: Wurmknoten, sowie solche um andere Fremdkörper.
Zeile 19 v. o. lies: denn eher könnte man dann Nocard u. s. w.

S. 273 Zeile 2 v. o. lies: 1. Nach Behandlung während 6 Monate u. s. w.

Berichtigungen

zu der Abhandlung des Herrn Dr. Schüder, S. 379 ff. dieses Bandes.

S. 383 Zeile 4 v. o. statt „(0·095 + 0·94)" „(0·095 + 0·04)".
S. 383 Zeile 7 v. u. statt „Natriumsulfat" „Natriumsulfit".
S. 390 Zeile 4 v. u. fehlt zwischen den Worten „Choleravibrionen sich" „gegenüber".

1.

2.

3.

4.

5.

6.

7.

8.

Vergr. sammtl. Fig. 450 : 1.
Koristka 1/12 Im. Oc. 2 mit Camera gez.

Verlag Veit & Comp. Leipzig.

1.

2.

3.

4.

5.

6.

7.

8.

Verlag Veit & Comp. Leipzig.

Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig.

Fig. 1.

Fig. 2.

Verlag v. Veit & Comp. Leipzig.

Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig.

Fig. 3.

c z h g B' B R p a r ha f

Fig. 4.

wp g ha b E' f R a o e e' E wa

Verlag Veit & Comp. Leipzig.

Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig.

Verlag Veit & Comp. Leipzig.

Fig. 1.

Fig. 2.

B. Fischer phot.

Verlag von VEIT & COMP., Leipzig.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 5.

Verlag von VEIT & COMP., Leipzig.